

中国科技核心期刊

动物学类核心期刊



CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853

动物学研究

ZOOLOGICAL RESEARCH

第34卷 第3期　Vol.34 No.3
2013年6月

动物生态学与多样性保护专题





中国科学院昆明动物研究所 中国动物学会 主办
科学出版社 出版

动物学研究（DONGWUXUE YANJIU）

第 34 卷第 3 期　　　2013 年 6 月

目　　次

动物生态学与多样性保护专题

非专题

封面说明：黄山短尾猴 (*Macaca thibetana*)，其行为特征研究结果见本期第 139 页。Randall C. Kyes 摄。

[期刊基本参数] CN53-1040/Q * 1980 * b * A4 * 144* zh + en * P * ￥40.00 * 900 * 21* 2013-06　　http://www.zoores.ac.cn

ZOOLOGICAL RESEARCH

Volume 34, Issue 3 June 2013

CONTENTS

Special Column on Animal Ecology and Diversity

Regular Papers

动　物　学　研　究　2013，Jun. 34(3): 139−144　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0139

雄性黄山短尾猴 (*Macaca thibetana*) 攻击支持雌性以换取交配回报

汪　爽[1]，李进华[1,2,*]，夏东坡[1]，朱　勇[1]，孙丙华[1]，王　希[1]，朱　磊[1]

1. 安徽大学 资源与环境工程学院，安徽 合肥　230601；
2. 安徽师范大学 生命科学学院，安徽 芜湖　241000

摘要：生物市场理论认为动物个体之间通过某种协定交换有价值的商品，使双方均受益。该研究采用目标动物法、行为取样法和连续记录法，对浮溪黄山野生猴谷鱼鳞坑短尾猴 (*Macaca thibetana*) A_1群 (YA_1群)和 A_2群 (YA_2群)成年个体在非繁殖季节 (2011 年 8 月—12 月)和繁殖季节 (2012 年 2 月—5 月)的雄性攻击支持雌性行为和交配行为进行研究，探讨雄性攻击支持雌性与交配之间的关系。两猴群在繁殖季节和非繁殖季节雄性攻击支持雌性与交配行为均呈显著正相关；YA_2群繁殖季节与非繁殖季节攻击支持后交配频次均显著高于随机交配；YA_1 群在繁殖季节攻击支持后交配频次与随机交配频次差异不显著，但在非繁殖季节攻击支持后交配频次显著高于随机交配，说明短尾猴成年雄性攻击支持雌性可以换取与该雌性个体的交配回报。本研究验证了生物市场理论中社会行为存在交换，首次证明了雄性攻击支持可以换取雌性的交配回报，为进一步研究雄性性竞争与雌性选择提供了实例。

关键词：短尾猴；生物市场理论；攻击支持；交配
中图分类号：Q959.848　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)03-0139-06

Male-to-female agonistic support for copulation in Tibetan macaques (*Macaca thibetana*) at Huangshan, China

Shuang WANG[1], Jin-Hua LI[1,2,*], Dong-Po XIA[1], Yong ZHU[1], Bing-Hua SUN[1], Xi WANG[1], Lei ZHU[1]

1. *School of Resources and Environmental Engineering, Anhui University*, *Hefei*　230601, *China*;
2. *School of Life Science, Anhui Normal University*, *Wuhu*　241000, *China*

Abstract: Biological market theory predicts that animals exchange the same commodities, or interchange different ones, to their mutual benefit. Using focal and behavioral sampling methods and continuous recording techniques, we studied Tibetan macaques (*Macaca thibetana*) in two study groups (YA1 and YA2) at Huangshan, China to see whether adults interchanged male-to-female agonistic support for copulation. Overall, male-to-female agonistic support was significantly correlated with copulation behaviors when data from both study groups were combined. For YA1, copulations in post-agonistic support observation (PO) was greater, but not significantly so, than random observation (RO) in the breeding season, and copulation in PO was significantly greater than RO in the non-breeding season. For YA2 copulations in PO were significantly greater than RO in both breeding and non-breeding seasons. These results suggest that a male who extends post-agonistic support to a female is significantly more likely to copulate with her. Our study provides evidence for the existence of a biological market involving interchanged social behaviors. Our study also illuminates the reproductive strategies of male competition and female choice in this species.

Keywords: Tibetan macaques (*Macaca thibetana*); Biological market theory; Agonistic support; Copulation

---

收稿日期：2013-01-13；接受日期：2013-04-20
基金项目：国家自然科学基金 (30970414, 31172106)；安徽省教育厅科技创新团队 (TD200703)；安徽大学研究生学术创新研究项目 (yqh100114, yqh100115)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: jhli@ahu.edu.cn
第一作者简介：汪爽 (1987-)，男，硕士研究生，主要从事灵长类行为生态学研究，E-mail: ws_901@126.com

具有亲缘关系的灵长类动物个体间的利益分享与合作行为可以“亲缘利他”理论解释，如分享食物 (Pastor-Nieto, 2001)和攻击支持 (Schino et al, 2009)等，但非亲缘关系的个体间也存在这样的行为。Noë & Hammerstein (1995)提出的生物市场理论 (biological market theory)解释了非亲缘关系个体间的互惠利他行为。该理论认为，动物个体之间通过某种贸易协定交换有价值，且不会被其他个体所掠夺的“商品”，如掌控的资源或能够提供的“服务”等。此外，交易者也会因不同目的而选择不同的交易，如通过某种行为交易相同行为或其他等价货物等。

攻击支持 (agonistic support)指社会性动物中，某一个体参与正在发生的斗争，支持其中一方而攻击另一方的行为(Seyfarth & Cheney, 1984; Hemelrijk, 1994)，主要包括同性间支持和异性间支持。同性间支持分为雄性−雄性联合 (de Waal, 1984; Silk, 1992; Widdig et al, 2000)和雌性−雌性联合 (Sterck et al, 1997; Wrangham, 1980)，异性间支持常见于雄性支持雌性 (Noë & Sluijter, 1990; Pereira, 1989; Smuts, 1985)。由于第三方个体的介入，被支持者获得直接利益，同时支持者也将获得被支持者的回报 (Schino et al, 2007；Trivers, 1971)，例如雄性黑猩猩 (*Pan troglodytes*)个体间存在的攻击支持交换现象 (de Waal, 1984)以及日本猕猴 (*Macaca fuscata*)雌性间的支持攻击与理毛行为的显著正相关 (Ventura et al, 2006；Schino, 2007)等。若上述研究符合生物市场理论中关于“动物个体之间通过某种协定交换有价值的商品，使双方均受益”的行为交换模型(Noë & Hammerstein, 1994; 1995)，那么，雄性攻击支持则可作为行为商品，用于换取同种行为 (攻击支持，Widdig et al, 2000)或同等价值的其他行为 (如分享食物，Mitani & Watts, 2001)。因此，我们推测，雄性攻击支持雌性可以换取雌性个体的行为回报。

在多雌多雄的灵长类群体中，雄性之间存在激烈性竞争 (Perloe, 1992; Soltis et al, 1997)，雄性为了获得更多的交配机会，需要给予雌性一定的利益投资 (Hemelrijk & Steinhauser, 2007; McNamara et al, 2008)，且这种投资多以行为交换方式完成 (Noë et al, 2001; Gumert, 2007a)。例如，Barrett & Henzi (2001)对草原狒狒 (*Papio cynocephalus*)的研究发现，雄性通过对雌性理毛，以接近雌性并获得交配机会；Gomes & Boesch (2009)在对黑猩猩的研究中发现，雄性倾向于与处于发情期的雌性分享食物，以获取交配机会；Gumert (2007a)在对食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)的研究中发现，在雌性发情期，雄性为获得交配机会，对雌性的理毛行为明显增多且持续时间增加；Duffy et al (2007)对黑猩猩的研究发现，中、低顺位雄性攻击支持高顺位雄性可以换取高顺位个体对中、低顺位个体的交配容忍。而尚无在短尾猴 (*Macaca thibetana*)社会中是否存在攻击支持与交配行为交换的相关报道。

短尾猴营群居生活，社会群体由成年雄性、成年雌性及其后代组成 (Li, 1999)，除分群外 (Li et al, 1996)，雌性终生生活于出生群，而雄性成年后大多离开该群 (Li, 1999)，因此，猴群中绝大部分成年雄性和雌性之间无亲缘关系(Zhu et al, 2008)。短尾猴属季节性繁殖物种，全年都有交配，非繁殖季节为7月—次年1月，繁殖季节为2月—6月 (Li et al, 2005)。雄性间具严格线性等级关系(Li, 1999; Berman et al, 2004)，属混交交配模式 (Li, 1999)，且高顺位个体占据较高的交配资源 (Xiong & Wang, 1991)。在其社会群体中，攻击支持行为时有发生，除雄性间联合外 (Li, 1999)，雄性攻击支持雌性的行为也很常见。因此，短尾猴可作为研究雄性攻击支持雌性与交配行为关系的理想物种。本研究不仅为探讨非人灵长类雄性竞争与雌性选择提供实例，同时也对生物市场理论中的社会行为交换假设进行验证，即，若攻击支持与交配行为相关，则雄性攻击支持雌性将获得被支持雌性的交配回报。

1 材料和方法

1.1 研究地点和对象

浮溪黄山野生猴谷地处安徽黄山风景区西南山麓 (N30°29′，E118°10′)，平均海拔500 m，最高海拔1 310 m (Li, 1999)。自1986年该地区建立研究基地以来，本课题组对此地鱼鳞坑地区短尾猴群进行了～26 a的连续观察及全年情况记录 (如出生、死亡、分群和雄性换群等) (Li, 1999)，猴群分为两个群体，鱼鳞坑 A_1 群(YA_1 群)和 A_2 群 (YA_2 群)，所有个体均可通过自然特征识别。研究期间，YA_1 群共有4只成年雄性和8只成年雌性，YA_2 群共有9只成年雄性和11只成年雌性。

1.2 研究方法

于2011年8—12月(非繁殖季节)和2012年2—5月(繁殖季节)，采用目标动物取样法 (focal

animal sampling)、行为取样法 (behavioral sampling)以及连续记录法 (continuously recording)记录行为数据 (Altmann, 1974)并跟踪观察猴群。目标动物取样法取样时间设为 15 min，使用录音笔 (型号：SONY ICD-AX412F) 辅助笔录。以随机抽签的方式确定目标动物个体顺序，采用目标动物取样法和连续记录法记录攻击支持行为和交配行为的发起者、接受者及持续时间等数据作为基准值 (baseline)，并用于反映研究对象的日常行为。

当进行基准值取样时发生交配行为，则以行为取样法记录交配行为的发起者和接受者，同时，结合行为取样法与目标动物取样法记录成年雄性攻击支持雌性后发起支持的雄性的交配行为数据。具体方法如下：当成年雄性攻击支持成年雌性时，采用目标动物取样法连续记录攻击支持发生后15 min内该发起支持的雄性与被支持雌性之间的交配数据；若在进行基准值目标动物取样过程中，正在观察的雄性目标个体支持某雌性个体时，则立即转为攻击支持后的 15 min 目标取样，连续记录发起支持的雄性与被支持雌性间的交配数据，但该部分数据在分析时定义为攻击支持后数据 (Koyama et al, 2006)；当无法确定目标个体或目标个体在观察中消失时，按照抽签顺序对下一目标个体进行行为观察；当先前消失的个体再次出现时，继续对该消失个体进行观察 (Li et al, 2007; Xia et al, 2012)。行为定义见表 1。

表 1　行为定义
Table 1　Behavioral definitions

行为目录 Behavior catalog	行为定义 Definition
交配 Mating	雄性个体抓住雌性的背毛，双脚踏在雌性的大腿之上，整个身体趴在雌性的背上，插入阴茎并随之抽动的行为。 Male mounts a female with intromission and thrusting, but not necessarily ejaculation.
攻击支持 Agonistic support	在社会性动物中，一个体参与正在发生的斗争，支持其中一方而攻击另一方的行为。 An individual intervenes in an ongoing agonistic interaction between two or more individuals, supporting one of the opponents.

行为定义参见 Li (1999)、Seyfarth & Cheney (1984)及 Hemelrijk (1994)。
Behavioral definitions were referred to Li (1999), Seyfarth & Cheney (1984) and Hemelrijk (1994).

1.3　数据处理

分析雄性攻击支持雌性与两者交配的相关性时，matrix correlation test 显示基准值中记录的交配行为数据与行为取样法记录的交配数据结构间是否存在相似性 (de Vries, 1993; Zhang et al, 2010)(YA_1 群非繁殖季节：*Kr*=25，*Pr*=0.010，繁殖季节：*Kr*=18，*Pr*=0.039；YA_2 群非繁殖季节：*Kr*=44，*Pr*=0.004，繁殖季节：*Kr*=30，*Pr*=0.021；based on 2000 permutations)。因此，将两种取样方法得到的交配数据合并，以便更准确反映所有研究个体的交配比例 (van Noordwijk, 1985; Robbins, 1999)，并使用矩阵相关检验 (row-wise matrix correlations test)分析攻击支持行为矩阵与交配行为矩阵的相关性(Kr test)。基准值和行为取样法记录来源的数据计算由 Hemelrijk’s Matrixtester v2.23 软件完成，数据分析基于 2 000 次排列分析 (Hemelrijk, 1990)。

将攻击支持后的交配数据和基准值中的交配数据转化为交配频次(次/h)后进行统计，比较攻击支持后 (post-agonistic support observation，PO)交配与随机 (random observation，RO)交配间的频次差异。攻击支持后交配数据来源于攻击支持后的目标动物取样法获取的数据，随机交配数据来源于基准值的数据，即在基准值中存在的发生攻击支持关系的两个体间的交配行为数据。例如，在攻击支持后的数据中，成年雄性 A 个体攻击支持雌性个体 B、C 及 D，则在基准值中同样选择与雄性 A 发生交配的雌性 B、C 及 D，这三组雌雄对组成 RO，与攻击支持后的交配行为数据进行配对 (Gumert, 2007b)，同时，剔除具有亲缘关系个体的交配行为数据。在记录的基准值数据中，符合配对要求的数据分别为：YA_1 群非繁殖季节 11 组、繁殖季节 10 组；YA_2 群非繁殖季节 15 组、繁殖季节 18 组。使用 SPSS16.0 for windows 软件进行数据分析，Wilcoxon signed ranks test 检验攻击支持后与随机交配频次的差异性，显著水平设为 α=0.05 (双尾检验)，实验数据以 mean±*SD* 表示。

2　结　果

研究期间共记录到成年雄性攻击支持雌性 216 次 (非繁殖季节：YA_1 群 32 次、YA_2 群 64 次；繁殖季节：YA_1 群 43 次、YA_2 群 77 次)。共观察 YA_1 群和 YA_2 群 32 个目标个体 221 d，基准值取样共 773

h [(24.91±0.87) h, n=32]。其中，非繁殖季节和繁殖季节，YA_1 群的取样时间分别为 (13.40±0.32) h 和 (12.50±0.00) h，YA_2 群的取样时间分别为 (12.46±0.29) h 和 (11.85±0.37) h，而雄性攻击支持雌性后与被支持雌性交配的概率，YA_1 群分别为 0.324±0.078 和 0.271±0.086，YA_2 群分别为 0.269±0.060 和 0.204±0.056。

2.1 短尾猴成年雄性攻击支持雌性与交配行为相关性

非繁殖季节 (YA_1 群：Kr=26、Pr=0.019；YA_2 群：Kr=50、Pr=0.002)(图 1a，c)及繁殖季节(YA_1 群：Kr=31、Pr=0.006；YA_2 群：Kr=40，Pr=0.015)(图 1b，d) (Kr test)，成年雄性攻击支持雌性与交配行为均显著正相关。

图 1 成年雄性攻击支持雌性与交配行为相关性

Figure 1 Correlation between adult male agonistic support female and copulation behaviors

a：YA_1 群非繁殖季节；b：YA_1 群繁殖季节；c：YA_2 群非繁殖季节；d：YA_2 群繁殖季节。

a: Group YA_1 in the non-breeding season; b: Group YA_1 in the breeding season; c: Group YA_2 in the non-breeding season; d: Group YA_2 in the breeding season.

2.2 短尾猴成年雄性随机交配频次与攻击支持后交配频次差异性

非繁殖季节，成年雄性攻击支持雌性后获取的交配频次显著高于随机交配频次 (YA_1 群：Z=−2.547、P=0.011、n=11；YA_2 群：Z=−3.111、P=0.002、n=15)(图 2a，b)。繁殖季节，YA_2 群攻击支持后的交配频次显著高于随机交配频次(Z=−2.667，P=0.008，n=18)(图 2b)，YA_1 群则无显著增加(Z=−1.863，P=0.063，n=10)(图 2a)。

3 讨 论

本研究以短尾猴为对象，研究成年雄性攻击支持雌性与交配行为间的关系。结果显示，雄性攻击支持雌性与交配行为显著正相关。在不同季节(繁殖季节、非繁殖季节)及不同社会群体 (YA_1、YA_2 群)，成年雄性攻击支持雌性后的交配频次均高于随机交配频次，且除在 YA_1 群繁殖季节的频次差异性不显著外，其余频次差异间均存在显著性，即，雄性短尾猴可以攻击支持获得交配回报。本研究不仅对生物市场理论 (Noë & Hammerstein, 1994; 1995; Noë et al, 2001)中的社会行为存在交换进行验证，且首次证明在短尾猴中成年雄性攻击支持雌性可以换取交配回报。

短尾猴虽为季节性繁殖物种 (Li et al, 2005)，

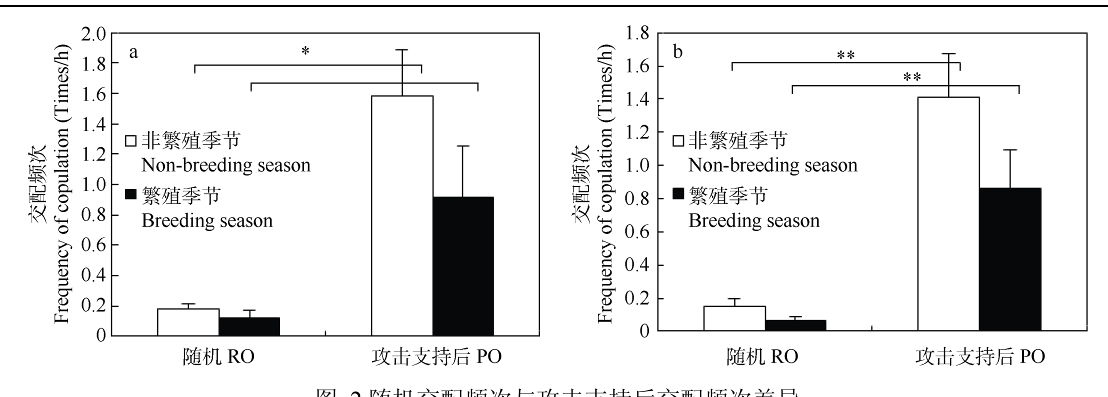


图 2 随机交配频次与攻击支持后交配频次差异

Figure 2 Copulation behaviors frequency between RO and PO

a：YA_1群（Group YA_1）；b：YA_2群（Group YA_2）。*:P<0.05; **:P<0.01。

但全年均有交配，非繁殖季节频次较高且射精，繁殖季节频次较低且不射精 (非繁殖功能交配) (Li et al, 2007)。本研究结果显示雄性攻击支持雌性与交配行为在全年均表现显著正相关，这可能与雌性短尾猴隐藏自己的发情周期 (Li, 1999; Li et al, 2005)，致使雄性无法判断其生理状况的独特生理特点有关。而雄性短尾猴的最佳策略是即便是在交配行为对繁殖毫无意义的繁殖季节，仍保持交配机会以增加雌性受孕可能并提高繁殖成功率 (Darwin, 1871)。因此，YA_1群和YA_2群成年雄性攻击支持雌性后的交配频次在繁殖季节及非繁殖季节均高于随机交配。即，与理毛 (Gumert, 2007b)及分享食物 (Mitani & Watts, 2001)等相似，雄性攻击支持为雌性个体所提供的利益亦可增加其与雌性交配的机会 (Hemelrijk & Steinhauser, 2007; McNamara et al, 2008)。繁殖季节，YA_2群雄性攻击支持后的交配频次与随机交配频次间差异显著的原因可能是由于YA_1群的雄性个体社会等级更加森严 (未发表数据)，且短尾猴对顺位具有认知能力 (Li, 2000)，使得非第一顺位的雄性个体在繁殖季节很少介入到冲突中，且即使介入，在冲突后也很少发生交配行为。而YA_2群雄性个体的社会等级相对宽松，同时，社会成员较多，第一顺位的猴王还需要较高等级的雄性个体巩固自身地位，因此，允许介入冲突的雄性个体在冲突后发生交配行为。该现象在黑猩猩中已有研究 (Duffy et al, 2007)。

另外，影响攻击行为与交配行为的因素很多，例如，第一顺位雄性可以任意攻击其他雄性或雌性而不会轻易遭遇攻击 (Li, 1999)，同时，也拥有最多的交配机会 (Xiong & Wang, 1991)，因此，高顺位个体不需要付出很多支持即可获取交配机会。而低顺位个体很少主动参与到攻击行为中 (Chen et al, 2008)，且即便在攻击支持雌性后，能否与该雌性成功发生交配也取决于其他个体 (例如高顺位个体) 存在与否。但由于YA_1群成年雄性较少，在进行社会等级划分后，中、低顺位只有一个个体，且已有的行为数据无法对等级划分后数据进行科学的统计分析。因此，要深入理解雄性攻击支持雌性与交配行为间的关系，需要更详细的数据资料探讨等级顺位的影响，从而进一步阐明雄性性竞争和雌性选择的个体策略。

致谢：本研究野外工作得到黄山野生猴谷管理中心谢玉峰、汪日光和程斌等工作人员及程海滨先生等的帮助和支持，美国中部华盛顿大学 Lori Sheeran 教授审阅了英文摘要，在此一并感谢！

参考文献：

Altmann J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour,* **49**(3): 227-267.

Barrett L, Henzi SP. 2001. The utility of grooming in baboon trops. *In*: Noe R, van Hooff Jaram, Hammerstein P. Economics in Nature. Cambridge: Cambridge University Press, 119-145.

Berman CM, Ionica CS, Li JH. 2004. Dominance style among *Macaca thibetana* on Mt. Huangshan, China. *International Journal of Primatology,* **25**(6): 1283-1312.

Chen R, Li JH, Zhu Y, Xia DP. 2008. Seasonal changes in aggressive behavior and fecal testosterone level in male Tibetan macaques *Macaca thibitana* at Huangshan, China. *Acta Zoologica Sinica,* **54**(3): 393-398. [陈燃, 李进华, 朱勇, 夏东坡. 2008. 雄性黄山短尾猴攻击行为和粪便睾酮水平季节性变化. 动物学报, **54**(3): 393-398.]

Darwin C. 1871. The Descent of Man and Selection in Relation to Sex. New York: Modern Library.

de Vries H. 1993. The rowwise correlation between two proximity matrices

and the partial rowwise correlation. *Psychometrika,* **58**(1): 53-69.

de Waal FBM. 1984. Sex differences in the formation of coalitions among chimpanzees. *Ethology and Sociobiology,* **5**(4): 239-255.

Duffy KG, Wrangham RW, Silk JB. 2007. Male chimpanzees exchange political support for mating opportunities. *Current Biology,* **17**(5): 586-587.

Gomes CM, Boesch C, Allen C. 2009. Wild chimpanzees exchange meat for sex on a long-term basis. *PloS ONE,* **4**(4): e5116.

Gumert MD. 2007a. Payment for sex in a macaque mating market. *Animal Behaviour,* **74**(6): 1655-1667.

Gumert MD. 2007b. Grooming and infant handling interchange in *Macaca fascicularis*: the relationship between infant supply and grooming payment. *International Journal of Primatology,* **28**(5): 1059-1074.

Hemelrijk CK. 1990. Models of, and tests for, reciprocity, unidirectionality and other social interaction patterns at a group level. *Animal Behaviour,* **39**(6): 1013-1029.

Hemelrijk CK. 1994. Support for being groomed in long-tailed macaques, *Macaca fascicularis*. *Animal Behaviour,* **48**(2): 479-481.

Hemelrijk CK, Steinhauser J. 2007. Cooperation, coalition, and alliances. *In*: Henk W, Tattersall I. Handbook of Paleoanthropology, Part II. Berlin Heidelberg: Springer, 1321-1346.

Koyama NF, Caws C, Aureli F. 2006. Interchange of grooming and agonistic support in chimpanzees. *International Journal of Primatology,* **27**(5): 1293-1309.

Li JH. 1999. The Tibetan Macaque Society: A Field Study. Hefei: Anhui University Press. [李进华. 1999. 野生短尾猴的社会. 合肥: 安徽大学出版社.]

Li JH. 2000. Recognition of rank relationship by Tibetan Monkeys. *Journal of Anhui University: Natural Science,* **24**(3): 116-120. [李进华. 2000. 短尾猴对顺位关系的认知. 安徽大学学报: 自然科学版, **24**(3): 116-120.]

Li JH, Wang QS, Han DM. 1996. Fission in a free-ranging Tibetan macaque group at Huangshan Mountain, China. *Chinese Science Bulletin,* **41**: 1377-1381.

Li JH, Yin HB, Wang QS. 2005. Seasonality of reproduction and sexual activity in female Tibetan macaques (*Macaca thibetana*) at Huangshan, China. *Acta Zoologica Sinica,* **51**(3): 365-375.

Li JH, Yin HB, Zhou LZ. 2007. Non-reproductive copulation behavior among Tibetan macaques (*Macaca thibetana*) at Huangshan, China. *Primates,* **48**(1): 64-72.

McNamara JM, Barta Z, Fromhage L, Houston AI. 2008. The coevolution of choosiness and cooperation. *Nature,* **451**(7175): 189-192.

Mitani JC, Watts DP. 2001. Why do chimpanzees hunt and share meat? *Animal Behaviour,* **61**(5): 915-924.

Noë R, Sluijter AA. 1990. Reproductive tactics of male savanna baboons. *Behaviour,* **113**(1): 117-170.

Noë R, Hammerstein P. 1994. Biological market: supply and demand determine the effect of partner choice in cooperation, mutualism and mating. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **35**(1): 1-11.

Noë R, Hammerstein P. 1995. Biological markets. *Trends in Ecology & Evolution,* **10**(8): 336-339.

Noë R, van Hooff JARAM, Hammerstein P. 2001. Economics in Nature: Social Dilemmas, Mate Choice and Biological Markets. Cambridge: Cambridge University Press.

Pastor-Nieto R. 2001. Grooming, kinship, and co-feeding in captive spider monkeys (*Ateles geoffroyi*). *Zoo Biology,* **20**(4): 293-303.

Pereira ME. 1989. Agonistic interactions of juvenile savanna baboons: II. Agonistic support and rank acquisition. *Ethology,* **80**(1-4): 152-171.

Perloe SI. 1992. Male mating competition, female choice and dominance in a free ranging group of Japanese macaques. *Primates,* **33**(3): 289-304.

Robbins MM. 1999. Male mating patterns in wild multimale mountain gorilla groups. *Animal Behaviour,* **57**(5): 1013-1020.

Schino G. 2007. Grooming and agonistic support: A meta-analysis of primate reciprocal altruism. *Behavioral Ecology,* **18**(1): 115-120.

Schino G, di Sorrentino EP, Tiddi B. 2007. Grooming and coalitions in Japanese macaques (*Macaca fuscata*): partner choice and the time frame of reciprocation. *Journal of Comparative Psychology,* **121**(2): 181-188.

Schino G, di Giuseppe F, Visalberghi E. 2009. Grooming, rank, and agonistic support in tufted capuchin monkeys. *American Journal of Primatology,* **71**(2): 101-105.

Seyfarth RM, Cheney DL. 1984. Grooming, alliances and reciprocal altruism in vervet monkeys. *Nature,* **308**(5959): 541-542.

Silk JB. 1992. The Patterning of intervention among male Bonnet Macaques: reciprocity, revenge, and loyalty. *Current Anthropology,* **33**(3): 318-325.

Smuts B. 1985. Sex and Friendship in Baboons. Cambridge: Cambridge University Press.

Soltis J, Mitsunaga F, Shimizu K, Nozaki M, Yanagihara Y, Domingo-Roura X, Takenaka O. 1997. Sexual selection in Japanese macaques II: female mate choice and male-male competition. *Animal Behaviour,* **54**(3): 737-746.

Sterck EHM, Watts DP, van Schaik CP. 1997. The evolution of female social relationships in nonhuman primates. *Behavioral Ecology and Sociobiology,* **41**(5): 291-309.

Trivers RL. 1971. The evolution of reciprocal altruism. *The Quarterly Review of Biology,* **46**(1): 35-57.

van Noordwijk MA. 1985. Sexual behaviour of Sumatran long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*). *Zeitschrift für Tierpsychologie,* **70**(4): 277-296.

Ventura R, Majolo B, Koyama NF, Hardie S, Schino G. 2006. Reciprocation and interchange in wild Japanese macaques: grooming, cofeeding, and agonistic support. *American Journal of Primatology,* **68**(12): 1138-1149.

Widdig A, Streich WJ, Tembrock G. 2000. Coalition formation among male Barbary macaques (*Macaca sylvanus*). *American Journal of Primatology,* **50**(1): 37-51.

Wrangham RW. 1980. An ecological model of female-bonded primate groups. *Behaviour,* **75**(3): 262-299.

Xia DP, Li JH, Garber PA, Sun LX, Zhu Y, Sun BH. 2012. Grooming reciprocity in female Tibetan macaques. *American Journal of Primatology*, **74**(6):569-579.

Xiong CP, Wang QS. 1991. Comparison of male sexual behaviors between Tibetan and Japanese macaques. *Acta Theriologica Sinica,* **11**(1): 13-22. [熊成培, 王岐山. 1991. 短尾猴和日本猴雄性性行为的比较研究. 兽类学报, **11**(1): 13-22.]

Zhang M, Li JH, Zhu Y, Wang X, Wang S. 2010. Male mate choice in Tibetan macaques *Macaca thibetana* at Mt. Huangshan, China. *Current Zoology,* **56**(2): 213-221.

Zhu Y, Li JH, Xia DP, Chen R, Sun BH. 2008. Inbreeding avoidance by female Tibetan macaques *Macaca thibetana* at Huangshan, China. *Acta Zoologica Sinica,* **54**(2): 183-190. [朱勇, 李进华, 夏东坡, 陈燃, 孙丙华. 2008. 雌性黄山短尾猴回避近亲交配. 动物学报, **54**(2): 183-190.]

动　物　学　研　究　2013，Jun. 34(3): 145−151　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0145

利用红外线相机监测地表水对广西弄岗国家级自然保护区兽类分布的影响

陈天波[1]，宋亦希[2]，陈辈乐[2]，蒙渊君[1]，温柏豪[2,*]

1. 广西弄岗国家级自然保护区 管理局，广西 龙州 532400;

2. 嘉道理农场暨植物园 嘉道理中国保育，香港特别行政区 新界大埔

摘要：广西弄岗国家级自然保护区属岩溶地貌，表土层薄，储水度低，地表水奇缺，动物可能因水源而改变其活动范围和规律。2006 年 3 月—2007 年 6 月和 2010 年 10 月—2011 年 5 月，该实验利用红外线相机在兽类通往水源地之间，即兽径上 (如足迹和粪便) 进行兽类调查。共拍摄到兽类 5 目 12 科 17 属 19 种，包括国家一级保护动物黑叶猴 (*Trachypithecus francoisi*) 和熊猴 (*Macaca assamensis*)。物种累积曲线 95%置信区间重迭，相似性分析和非度量多维标度显示两种微生境出没物种的差异较小，然而，差异物种占整体记录的 42%，可见岩溶地区水资源极其珍贵。中、短期保护建议包括加强水源点的巡护、防止偷猎、限制滥抽地下水，以及考虑整合呈岛屿状的陇呼、弄岗及陇山地区，以加强保护大面积生境的连贯性，并加速恢复山峰间已遭破坏的圆洼谷地的原生树林。

关键词：红外线相机；哺乳类；喀斯特地貌；非损伤性取样法；出现指数
中图分类号：Q143; Q959.8　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0254-5853-(2013)03-0145-07

Influence of surface water availability on mammal distributions in Nonggang National Nature Reserve, Guangxi, China

Tian-Bo CHEN [1], Yik-Hei SUNG [2], Pui-Lok Bosco CHAN [2], Yuan-Jun MENG [1], Pak-Ho WAN [2,*]

1. *Nonggang National Nature Reserve*, *Chongzuo*, *Guangxi* 532400, *China*;

2. *Kadoorie Conservation China*, *Kadoorie Farm and Botanic Garden*, *Lam Kam Road*, *Tai Po*, *New Territories*, *Hong Kong*, *China*

Abstract: Surface water is a major limiting factor affecting animal activities in karst ecosystems. From March, 2006 to June, 2007 and from October, 2010 to May, 2011, infra-red camera traps were installed along animal trails and temporary rain pools in Nonggang National Nature Reserve, Guangxi, China, to monitor mammal diversity and relative abundance. In total, 19 species from 17 genera, 12 families, and 5 orders were recorded, including two State Key Protection Class I species, the François' langur (*Trachypithecus francoisi*) and Assam macaque (*Macaca assamensis*). Although 42% of species only occurred in one of the microhabitats, differences in species assemblages between trails and pools were not significant. The results of our observation indicated that camera trapping was effective in monitoring medium to large sized mammals, and for recording illegal hunting. In addition, our results suggest that authorities should reinforce patrolling, especially at water pools during the dry season, and eradicate unsustainable extraction of underground water. Moreover, based on the advantages of large inhibited environments to animal species, especially to large predators, we also recommend connecting the three isolated sections of the reserve to promote species recovery and dispersal.

Keywords: Infra-red camera trap; Mammals; Karst; Non-invasive sampling; Occurrence index

红外线感应相机的优点是可以 24 h 运作并收集物种的分布、数量和行为等信息，以及监测珍稀、行踪隐秘或密度低的物种 (Jenks et al, 2010; Pei et al, 2010)，甚至可以通过所拍摄照片中个体皮毛的花纹图案或疤痕来辨认独立个体，以重捕法(capture-recapture)来估计该物种的密度和数量(Karanth & Nichols, 1998)等。此技术通过动物的体温和动作来引发相机自动拍摄，这种非损伤性取样

收稿日期：2012-11-02；接受日期：2013-01-22

*通信作者(Corresponding author)，E-mail: jaywan@kfbg.org

第一作者简介：陈天波，男，工程師，从事野生动物保护工作。E-mail: chentb1971@163.com

法 (non-invasive sampling) 现已得到广泛应用 (Kays & Slauson, 2008)。Long (1988)的《广西弄岗自然保护区综合考察报告》及 Kadoorie Farm & Botanic Garden (2004)的《快速生物多样性评估报告——广西西南部弄岗国家级自然保护区》分别利用直接采集标本和访问调查了解区内的哺乳类多样性。此类常规方法可有效掌握基本物种信息, 但需要猎杀动物并受限于被访者的偏差。现今除用于食虫类、啮齿类及翼手类等需要通过头骨及牙齿特征才能准确鉴定的小型兽类外, 已不适用于中、大型或濒危物种的监测工作。由于当时的考察时间分别为 1979 及 1998 年，而且工作时间较短，不能全面反映区内哺乳动物的多样性及习性，因此，有必要利用红外线拍摄技术收集信息并更新物种名录及分布, 以便为今后的管理和监测提供依据 (Ma & Harris, 1996; Wang et al, 2006)。

喀斯特地貌 (Karst), 又名岩溶地貌, 是指碳酸盐岩石分布地区特有的地貌现象(Yuan, 1994)。此复杂地貌提供的独特生境与屏障效应, 无疑增加了印缅生物多样性热点地区的物种丰富度，在记录到的 433 种哺乳类中，有>70 个(16.9%)特有种 (Mittermeier et al, 2005)。桂西南是我国岩溶地貌的核心地区, 石灰岩占广西省面积的 40%, 具有生物多样性保护和科研监测的重大意义 (Zhu, 2007)。近年来，在此地区已发现的脊椎动物新物种包括凭祥睑虎 (*Goniurosaurus luii*; Grismer et al, 1999)及弄岗穗鹛 (*Stachyris nonggangensis*; Zhou & Jiang, 2008) 等。随着保护意识的加强，由于遭受盗猎和栖息地破坏等人为干扰而面临灭绝威胁的兽类物种虽得以逐渐恢复 (Lau et al, 2010) , 然而，相关监测研究主要集中在灵长类或国际关注的旗舰种，例如，东部黑冠长臂猿 (*Nomascus nasutus*; Chan et al, 2008) 和白头叶猴 (*Trachypithecus leucocephalus*; Wang et al, 2005) 等，其他兽类的生存状况和生态资料均相当缺乏。

弄岗国家级自然保护区于 1979 年建立，动、植物种类丰富, 计有维管植物 1431 种 (Liang et al, 1988)、鸟类 124 种 (Jiang, 2007；Zhou and Jiang, 2008); 采集和访问调查到哺乳类 20 和 38 种 (Long, 1988; Kadoorie Farm & Botanic Garden, 2004)。虽然弄岗的保育重要性已经得到广泛认同，但对区内哺乳类的关注仍比较滞后，且主要集中于国家 I 级重点保护野生动物黑叶猴 (*Trachypithecus francoisi*; Huang et al, 2011; Zhou et al, 2009) 、熊猴 (*Macaca assamensis*; Zhou et al, 2007) 和白头叶猴 (Hu et al, 1998)等珍稀灵长类, 甚至仅限于数量的调查。

保护区为典型北热带石灰岩山地常绿季雨林, 发育完整的岩溶系统导致全年性溪流贫乏。水资源分布季节性变化大，雨季才出现谷地、洼地等暂时性水潭和蓄水池等地表水，旱季则主要是地下水。动物赖以生存的地表水奇缺，限制了其活动分布。本调查旨在应用红外线相机技术对保护区内的兽类进行调查，并初步了解地表水对其活动分布的影响, 从而提升保护区的科研监测能力和管理水平。

1 材料和方法

1.1 研究地点

保护区 (N22°13′～22°33′, E106°42′～107°04′) 处中越边境，跨广西崇左市龙州和宁明两县，呈西北—东南向长条状地形，由陇呼、弄岗及陇山组成, 总面积 101 km^2。石峰 10～80 个/km^2，海拔 300～600 m，森林覆盖率 90%。年均气温 22 ℃，年降雨量 1 150～1 550 mm (890～2 043 mm)，且 76%的降雨量集中在 5—9 月的雨季 (Liang et al, 1988; Su et al, 1988)。石达地下河长 6 km，旱季水位为地下 18～20 m, 雨季水位为地上 2～3 m，并由天窗溢出 (Hu, 1988)。本调查在面积最大的弄岗 (54 km^2)进行 (图 1)。

1.2 调查方法

2006 年 3 月—2007 年 6 月, 调查人员按照兽类的活动规律共放置 15 台胶卷红外线感应相机 (Wildlife II, China)，并依据每月的照片效果确认是否转移放置点。放置点共 29 个，其中 25 个点为兽径，即频繁发现兽类活动痕迹 (如足迹和粪便)的地点，每个点平均相距 1 km, 并避免处于同一条兽径, 且其方圆 500 m 范围内没有地表水源。其余 4 个点位于水源地旁，水源积水量为 0.1 m^3；旱季积水量不足时，由护林员挑水补充。每月或拍照>30 张后 (卷满 36 张)更换胶卷和电池。由于胶卷红外线感应相机的陆续损耗，2010 年 10 月—2011 年 5 月，在兽径上更新安装 5 台数码红外线感应相机 (Little Acorn 5210, US)，并每两个月检查一次。文中哺乳类的拉丁学名及中文名根据 Smith & Xie (2008)的命名法。

1.3 数据处理

每种哺乳类的相对数量以出现指数(occurrence

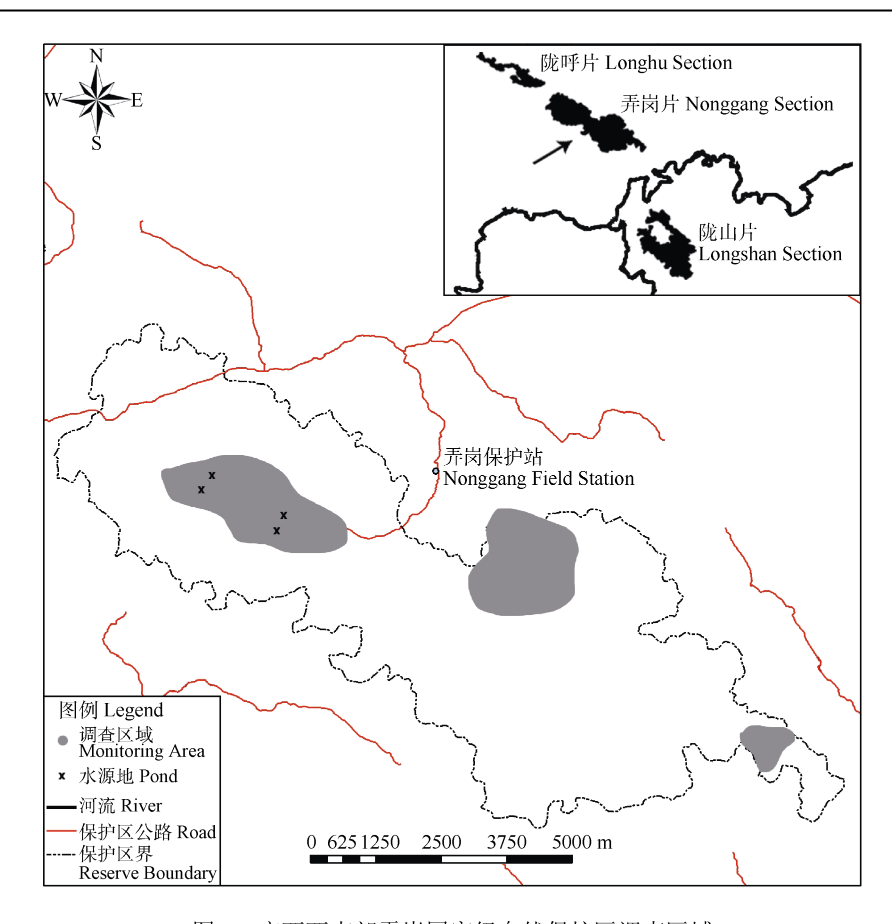


图 1　广西西南部弄岗国家级自然保护区调查区域

Figure 1　Survey area in Nonggang National Nature Reserve, Guangxi, China

index, OI)表示，即相机在每 100 d 所拍摄的个体数 (O’Brien et al, 2003)。除能够明显分辨为不同个体的照片外 (不同只数、斑纹及体型等)，相同物种于 0.5 h 内的连拍照片只视为一个有效独立记录 (Pei et al, 2010)。

采用 Estimate S 软件来比较兽径与水源地之间拍摄到的哺乳类多样性差异，利用物种累积曲线 (species accumulative curve)显示随拍摄日数所增加累积的物种数量，置信区间 (confidence intervals, CI)设置为 95%，如 CI 不重迭，表示在两种微生境拍摄到的累积物种有明显差异。以 PRIMER 6.1.5 软件计算相似性分析(ANOSIM)，差异由非度量多维标度(NMDS)图像显示，形成差异的物种由相似性百分比分析(SIMPER)表示。

2　结　果

2.1　哺乳类多样性

除 8 台胶卷相机因雨季湿度太高而未能正常运作外，总工作日共计 1 594 d，共拍摄到有效兽类照片 635 张，除未能鉴定的鼠类和松鼠外，共准确记录 19 种，隶属 5 目 12 科 17 属 (表 1)，包括国家 I 级重点保护野生动物黑叶猴和熊猴。食肉目中，以鼬獾 (*Melogale moschata*)和食蟹獴 (*Herpestes urva*)的 OI 最高，分别达 2.82 及 2.26；偶蹄目以赤麂 (*Muntiacus muntjak*)为首，OI 达 6.15；啮齿目中，不计从照片中难以明确鉴定的鼠类和松鼠，OI 最高的为帚尾豪猪 (*Atheurus macrourus*)，达 3.45。

2006 年的 10 个月内，共拍摄到兽类 12 种，2007 年的 6 个月和 2010—2011 年的 5 个月内，分别拍摄到兽类 14 和 11 种。其中，甘南鬣羚 (*Capricornis milneedwardsii*)和红白鼯鼠 (*Petaurista alborufus*) 仅拍摄于 2006 年；黄腹鼬 (*Mustela kathiah*)、黑叶猴和熊猴等仅拍摄于 2007 年；野猪 (*Sus scrofa*) 仅拍摄于 2010—2011 年。旱季平均拍摄到 9 种兽类。其中 11 月最多，为 11 种。雨季平均只拍到 1 种兽类。5 月最多，为 4 种；而 8—9 月则因大雨引起的相机故障而未能拍摄到任何兽类。

表 1 调查期间每月拍摄到的兽类

Table 1 Mammal species detected by camera trap each month during the study period

	物种 Species	出现指数 OI	雨季月份 Wet season month					旱季月份 Dry season month						
			5 月 May	6 月 Jun	7 月 Jul	8 月 Aug	9 月 Sep	10 月 Oct	11 月 Nov	12 月 Dec	1 月 Jan	2 月 Feb	3 月 Mar	4 月 Apr
树鼩目 Scandentia														
树鼩科	**Tupaiidae**													
北树鼩	*Tupaia belangeri*	2.63						Δ	Δ		oΔ			
啮齿目 Rodentia														
鼠科	**Muridae**													
小泡巨鼠	*Leopoldamys edwardsi*	0.69			x				x		o		o	xo
鼠类	Unidentified rats	6.21		o				xΔ	Δ	xΔ	oΔ	oΔ	xo	o
松鼠科	**Sciuridae**													
赤腹松鼠	*Callosciurus erythraeus*	0.38							x	x	o	o		
红腿长吻松鼠	*Dremomys pyrrhomerus*	0.94	x		x			x		x	o		o	
红颊长吻松鼠	*Dremomys rufigenis*	0.25						xΔ	x	x			o	
红白鼯鼠	*Petaurista alborufus*	0.19								x				
松鼠类	Unidentified squirrels	2.57						Δ	Δ	Δ		oΔ		
豪猪科	**Hystricidae**													
帚尾豪猪	*Atherurus macrourus*	3.45						Δ	xΔ	Δ		Δ	x	x
食肉目 Carnivora														
獴科	**Herpestidae**													
食蟹獴	*Herpestes urva*	2.26	x	o				xΔ	xΔ	x			x	x
鼬科	**Mustelidae**													
鼬獾	*Melogale moschata*	2.82		o	x			x	xΔ	xΔ	oΔ	o	xo	o
黄腹鼬	*Mustela kathiah*	0.06										o		
灵猫科	**Viverridae**													
果子狸	*Paguma larvata*	0.75						Δ	Δ					o
斑林狸	*Prionodon pardicolor*	0.69							Δ	x	Δ	oΔ	o	
猫科	**Felidae**													
豹猫	*Prionailurus bengalensis*	0.19									oΔ			
偶蹄目 Artiodactyla														
猪科	**Suidae**													
野猪	*Sus scrofa*	0.12									Δ			
鹿科	**Cervidae**													
赤麂	*Muntiacus muntjak*	6.15	x					xΔ	xΔ	xΔ	Δ	oΔ	o	x
牛科	**Bovidae**													
甘南鬣羚	*Capricornis milneedwardsii*	0.31											x	
灵长目 Primates														
猕猴科	**Cercopithecidae**													
熊猴	*Macaca assamensis*	0.13											o	o
猕猴	*Macaca mulatta*	1.38	x					Δ	x	xΔ	Δ			x
黑叶猴	*Trachypithecus francoisi*	0.44												o

出现指数(OI)：红外线相机在每 100 d 所拍摄的有效照片数(未能鉴定的鼠类和松鼠不计入分析)； x：照片于 2006 年拍摄；o：照片于 2007 年拍摄；Δ：照片于 2010—2011 年拍摄。

Occurrence index (OI): number of independent photos of a species taken per 100 trap nights (unidentified rats and squirrels were excluded from analysis); x: Photos taken in 2006; o: Photos taken in 2007; Δ: Photos taken from 2010 to 2011.

2.2　地表水的影响

甘南鬣羚、野猪、熊猴和果子狸 (*Paguma larvata*) 等仅拍摄于兽径，OI 偏低 (0.12～0.75)；黄腹鼬、豹猫 (*Prionailurus bengalensis*)、黑叶猴和红白鼯鼠等仅拍摄于水源地，OI 更低 (0.06～0.44)；斑林狸 (*Prionodon pardicolor*)、猕猴 (*Macaca mulatta*)、小泡巨鼠 (*Leopoldamys edwardsi*)、红腿长吻松鼠 (*Dremomys pyrrhomerus*)、红颊长吻松鼠(*Dremomys rufigenis*)、赤腹松鼠 (*Callosciurus erythraeus*)、树鼩 (*Tupaia belangeri*)、鼬獾、食蟹獴、赤麂和帚尾豪猪等则在两种微生境均被拍摄到，OI 范围较宽 (0.25～6.15)。图 2 显示两条累积曲线的 95%CI 重迭,表明水源地和兽径两类拍摄点的物种数量没有明显差异，NMDS 图像亦支持该结果 (ANOSIM, R=0.184, *P*=0.112, 图 3)。其中，超过 30%的差异乃由赤麂、鼬獾和小泡巨鼠等造成，连同猕猴、帚尾豪猪、食蟹獴、红腿长吻松鼠和黑叶猴等共构成～60%的差异(表 2)。

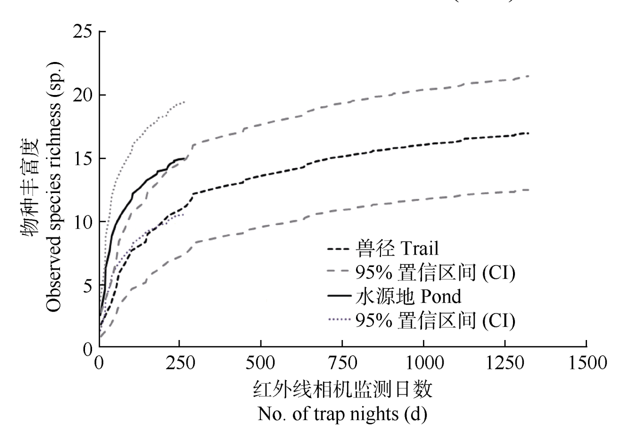


图 2　在通往水源地的兽径上拍摄到的兽类物种累积曲线，置信区间为 95 %

Figure 2　Species accumulative curve of mammals detected at trails and ponds, confidence intervals at 95%

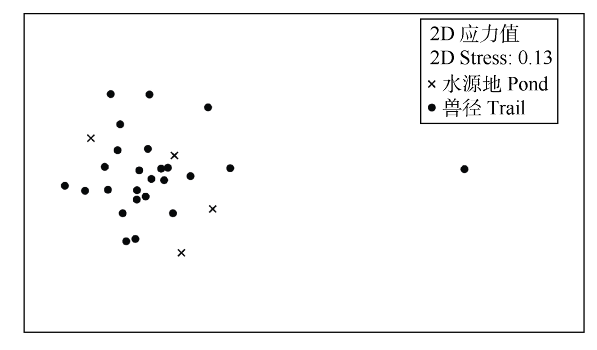


图 3　在兽径与水源地拍摄到的兽类物种相似性分析的非度量多维标度图像

Figure 3　NMDS plot of ANOSIM analysis for species detected at trails and ponds (*R*=0.184, *P*=0.112)

表 2　在通往水源地的兽径上拍摄到差异物种的相似性百分比分析

Table 2　SIMPER analysis showing species contribution to assemblage differences between trails and ponds

物种	Species	平均丰度 Average abundance		差异百份比 Contribution percentage
		兽径 Trail	水源地 Pond	
赤麂	*Muntiacus muntjak*	0.58	0.94	11.15
鼬獾	*Melogale moschata*	1.45	0.3	10.76
小泡巨鼠	*Leopoldamys edwardsi*	1.01	0.03	8.39
猕猴	*Macaca mulatta*	0.52	0.37	7.04
帚尾豪猪	*Atheurus macrourus*	0.27	0.66	6.27
食蟹獴	*Herpestes urva*	0.79	0.27	5.92
红腿长吻松鼠	*Dremomys pyrrhomerus*	0.62	0.23	5.35
黑叶猴	*Trachypithecus francoisi*	0.68	0.03	5

3　讨　论

3.1　红外线拍摄技术应用

现今，多种哺乳类均受国家保护，且基本不允许采集中、大型兽类标本。红外线拍摄技术无伤害性，可持续监测同一个体或种群的活动规律与习性 (Karanth & Nichols, 1998)，为更新的名录提供可永久保存的照片凭据。由于动物体型越大，停留在相机前面的时间越长，拍摄效果越好(Ma & Harris, 1996)，因此红外线拍摄技术适用于最难直接观察到的中、大型兽类，而对于小型啮齿类或食虫类的监测则需要取得能清晰分辨鉴定特征的照片。红外线感应相机技术可结合传统兽类调查方法，作出全面、有效的长期监测。该技术在珍稀濒危动物的调查中亦具有独特优势，成本远低于长年持续的人力监测。例如，Wilting et al (2010)利用该技术在马来西亚婆罗洲北部的沙巴州取得了毛鼻水獭 (*Lutra sumatrana*) 的照片证据，而此物种在沙巴州已>100 a 未被纪录到，在整个婆罗洲也>10 a 未被纪录到 (Sasaki et al, 2009)。即在记录密度低、数量极少的动物时，可以通过设置更多相机作长年监测，并配合调问和生境调查增加拍摄机会。但是，相机的防水功能仍有待改善，以减少数据损失和设备损坏。本调查后期 (2010 年)发展出的具夜视功能的数码红外线相机干扰性更低，数据收集量大大提高，有利于社区宣教和学术交流，应大力推广，并为护林员提供技术培训 (Wan, 2010)。

本调查利用红外线感应相机，共记录到 19 种非飞行性哺乳动物，其中黄腹鼬、熊猴、猕猴、红白鼯鼠、红腿长吻松鼠、红颊长吻松鼠、赤麂和帚

尾豪猪等并未收录在 Long (1988)采集到的 19 种非飞行性哺乳类动物中。调查时程共计 1 594 d，累积曲线显示 0～250 d 所纪录到的累积物种急剧上升，表明在 250 d 之内基本能够拍摄到数量较多、分布较广的物种，随后，曲线上升舒缓, 增加的累积物种均为一些较难拍摄到的物种。曲线末端的轻微上升趋势表示要纪录余下的物种，如：云豹、黑熊及穿山甲等，则需要较长时间的监测 (Kadoorie Farm and Botanic Garden, 2004)。2007 年 10 月，村庄群众反映有一大型猫科动物在保护区周边出没，虽然，护林员随后即到该处安装相机，但仍未能拍摄到照片证据。

3.2 地表水对兽类活动的影响

岩溶地区表土层薄，储水度低，保护区内甚少全年性溪流。动物为了适应这种生境，除从食物中获取水外，将争夺地表饮用水资源，因此，水源影响着动物的活动范围和规律。每年雨季的 5—8 月，地下河水位上升，地表水和各种植物性食物较丰富，兽类动物的活动范围较小；旱季的 10 月—来年的 4 月，地表水奇缺，植物的嫩叶和果实较少，兽类动物需要扩大家域范围、增加漫游距离以获取足够的食物和水分。此现象在弄岗的黑叶猴研究中已得到证实 (Huang et al, 2011)。与雨季相比, 保护区内的熊猴在旱季也明显增加觅食的时间 (Zhou et al, 2007)，表明食物能够为其提供稳定的水分来源，并使其不必到达地面直接饮水 (Wu et al, 2011)。然而，本研究的水源相机安装点动物活动频繁，并首次于保护区拍摄到树栖性较强的黑叶猴和红白鼯鼠，反映出当时的干旱程度较为严重,并影响到了果叶中的含水量。此外，黄腹鼬和豹猫也仅拍摄于水源点，推断这与其纯肉食性有关，而与可随季节改变增加植物性食物摄入比例的食果性强的果子狸和鼬獾不同 (Zhou et al, 2008a，b)。

本次调查仅拍摄于兽径上或水源地的物种分别为 4 种，且 OI 普遍偏低。差异物种相似性百分比分析中～55%的差异，由在两类生境均拍摄到的 7 种动物所导致，即赤麂、鼬獾、小泡巨鼠、猕猴、帚尾豪猪、食蟹獴及红腿长吻松鼠等。由于仅限于某一生境的物种密度较低，拍摄到的照片数量不多，并且部分数据因机器损坏而损失，因此于水源地及兽径上所拍摄到的物种无显著差异。今后，情况许可时，应加强调查规模和时间，勘查更多的水源点并安装红外线相机，提高拍摄到习性更隐秘或珍稀物种的可能性。此次于两种微生境共拍到 8 种不同的物种，占整体的 42%，可见岩溶地区水资源极其珍贵，保持大面积连贯的生境对兽类生存十分重要。

红外线感应相机技术成本较低，结合传统调查方法，可有效纪录一般很难直接观察到的中、大型兽类，并全面反映其多样性和分布，甚至可拍下偷猎者以作立案警示之用。基于本调查的其它中、短期建议包括：加强水源点的巡护，防止偷猎和限制周边过度农垦开发，滥抽地下水，以及减少栖息地破坏。从保护生物学的角度，在理想条件下，可考虑整合保护区目前呈岛屿状的陇呼、弄岗及陇山 3 个片区，以避免生境岛屿化加剧。保护区的圆洼谷地表土较厚、肥力较高，大部份曾经被开垦为农田，虽然随保护区建设已逐渐荒废，但经历刀耕火种，植被更新花样滞后，建议加速恢复山峰间已遭破坏的洼地原生树林，此举将对各种中、大型兽类的繁衍、恢复和扩散发挥关键作用。

致谢：感谢广西壮族自治区林业厅对本研究项目的支持; 感谢保护区兽类监测小组成员 (赵贵民、黄伟权、黄桂保、梁立新、农伟宏、苏理民、黄艳涛、农伟雄、陈伟强、梁海流、苏文亮及周崇兴等)在选择安装点、补充水源、更新电池及收集数据等方面的工作; 感谢审稿人对本文初稿提出的宝贵意见及建议; 感谢香港嘉道理农场暨植物园华南野生兽类调查项目基金提供的部分经费。

参考文献：

Chan BPL, Tan XF, Tan WJ. 2008. Rediscovery of the critically endangered eastern black-crested gibbon *Nomascus nasutus* (Hylobatidae) in China, with preliminary notes on population size, ecology and conservation status. *Asian Primates Journal,* **1**(1): 17-25.

Grismer LL, Viets BE, Boyle LJ. 1999. Two new continental species of *Goniurosaurus* (Squamata: Eublepharidae) with a phylogeny and evolutionary classification of the genus. *Journal of Herpetology,* **33**(3): 382-393.

Hu CG. 1988. Report on the investigation of hydrogeology from Longgang Natural Reserve. *Guihaia*, （Additamentum 1）: 17-31. [胡长庚. 1988. 弄岗自然保护区水文地质考察报告. 广西植物, （增刊 1）: 17-31.]

Hu G, Wei Y, Li ZY. 1998. The survey on the white-headed langur in Longrei and the analysis of the cause for endangerment. *Journal of Guangxi Normal University*: *Natural History,* **16**(3): 71-75. 胡刚, 韦毅, 李兆元. 1998. 广西陇瑞白头叶猴种群调查及濒危机制分析. 广西师范大学学报(自然科学版), **16**(3): 71-75.

Huang ZH, Zhou QH, Huang CM, Meng YJ, Wei H. 2011. Home range and daily ranging distance of François' langur (*Trachypithecus francoisi*) in Nonggang Nature Reserve, Guangxi, China. *Acta Theriologica Sinica,* **31**(1): 46-54. [黄中豪, 周岐海, 黄乘明, 蒙渊君, 韦华. 2011. 广西弄岗黑叶猴的家域和日漫游距离. 兽类学报, **31**(1): 46-54.]

Jenks KE, Wanghongsa S, Songsasen N, Leimgruber P, Howard J. 2010. Camera-trap evidence of Large-spotted Civet *Viverra megaspila* in Khao Ang Rue Nai Wildlife Sanctuary and Khao Yai National Park, Thailand. *Small Carnivore Conservation,* **42**: 19-21.

Jiang AW. 2007. The Study of Understory Birds in Nonggang Karst Forest. M. D. Thesis, Guangxi University. [蒋爱伍. 2007. 弄岗喀斯特森林下层鸟类研究. 广西大学硕士论文.]

Kadoorie Farm and Botanic Garden. 2004. Report of rapid biodiversity assessments at Nonggang National Nature Reserve, Southwest Guangxi, China, May 1998. Chinese version No. 11. Hong Kong: KFBG. [嘉道理农场暨植物园. 2004. 快速生物多样性评估报告——广西西南部弄岗国家级自然保护区. 中文版第 11 号. 香港: 嘉道理农场暨植物园出版.]

Karanth KU, Nichols JD. 1998. Estimation of tiger densities in India using photographic captures and recaptures. *Ecology,* **79**(8): 2852-2862.

Kays RW, Slauson KM. 2008. Remote cameras. *In*: Long RA, MacKay P, Zielinski WJ, Ray JC. Noninvasive Survey Methods for Carnivores. Washington: Island Press, 110-140.

Lau MWN, Fellowes JR, Chan BPL. 2010. Carnivores (Mammalia: Carnivora) in South China: a status review with notes on the commercial trade. *Mammal Review,* **40**(4): 247-292.

Liang CF, Liang JY, Liu LF, Mo XL. 1988. A report on the exploration of the flora of Longgang Natural Reserve. *Guihaia*, （Additamentum 1）: 83-184. [梁畴芬, 梁健英, 刘兰芳, 莫新礼. 1988. 弄岗自然保护区植物区系考察报告.广西植物, （增刊 1）：83-184.]

Long GZ. 1988. Terrestrial vertebrate in the Longgang Natural Reserve. Guihaia, (Additamentum 1): 267-275. [龙国珍. 1988. 弄岗自然保护区陆栖脊椎动物调查报告. 广西植物, (增刊 1): 267-275.]

Ma SL, Harris RB. 1996. Use of remote camera systems to document wildlife species presence in forested areas of Yunnan. *Zoological Research,* **17**(4): 360-370. [马世来, 里查德·何里来. 1996. 自动感应照像系统在野生动物调查中的应用. 动物学研究, **17**(4): 360-370.]

Mittermeier RA, Gil PR, Hoffmann M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, da Fonseca GAB. 2005. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Ecoregions. Mexico City: CEMEX.

O'Brien TG, Kinnaird MF, Wibisono HT. 2003. Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey populations in a tropical forest landscape. *Animal Conservation,* **6**(2): 131-139.

Pei KJC, Lai YC, Corlett RT, Suen KY. 2010. The larger mammal fauna of Hong Kong: Species survival in a highly degraded landscape. *Zoological Studies,* **49**(2): 253-264.

Sasaki H, Mohd. Nor B, Kanchanasaka B. 2009. Past and present distribution of the Hairy-nosed Otter Lutra sumatrana Gray 1865. *Mammal Study,* **34**(4): 223-229.

Smith AT, Xie Y. 2008. A Guide to the Mammals of China. Oxford: Princeton University Press.

Su ZM, Zhao TL, Huang QC. 1988. The vegetation of Longgang Natural Reserve in Guangxi. *Guihaia*, (Additamentum 1): 185-214. [苏宗明, 赵天林, 黄庆昌. 1988. 弄岗自然保护区植被调查报告. 广西植物, (增刊 1)：185-214.]

Wan J. 2010. Using camera traps to engage local people in participatory biodiversity monitoring: an example from Southern China. The 2010 International Meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation, 19-23 July 2010, Sanur-Denpasar, Bali, Indonesia.

Wang DZ, Ran WZ, Jin T, Pan WS. 2005. Population census of the white-headed langur (*Trachypithecus leucocephalus*) at Longrui Karst Hills, Guangxi, China. *Primates,* **46**(3): 219-222.

Wang DJ, Li S, McShea WJ, Li MF. 2006. Use of remote-trip cameras for wildlife surveys and evaluating the effectiveness of conservation activities at a nature reserve in Sichuan Province, China. *Environmental Management,* **38**(6): 942-951.

Wilting A, Samejima H, Mohamed A. 2010. Diversity of Bornean viverrids and other small carnivores in Deramakot Forest Reserve, Sabah, Malaysia. *Small Carnivore Conservation,* **42**: 10-13.

Wu Q, Huang ZH, Yuan PS, Zheng FY, Zhou QH. 2011. Water content of the food and its influence on food choice of François' langur at Nonggang, Guangxi, China. *Journal of Guangxi Normal University (Natural Science),* **29**(4): 117-121. [吴茜, 黄中豪, 袁培松, 邓凤云, 周岐海. 2011. 广西弄岗黑叶猴食物的水分含量对食物选择的影响. 广西师范大学学报(自然科学版), **29**(4): 117-121.]

Yuan DX. 1994. Karst of China. Beijing: Geological Publishing House. [袁道先. 1994. 中国岩溶学. 北京: 地质出版社.]

Zhou F, Jiang AW. 2008. A new species of Babbler (Timaliidae: Stachyris) from the Sino-Vietnamese Border Region of China. *The Auk,* **125**(2): 420-424.

Zhou QH, Huang ZH, Wei XS, Wei FW, Huang CM. 2009. Factors influencing interannual and intersite variability in the diet of *Trachypithecus francoisi*. *International Journal of Primatology,* **30**(4): 583-599.

Zhou QH, Wei H, Huang ZH, Li YB, Lu MX, Huang CM. 2007. Activity patterns and time budgets of the Assamese macaque *Macaca assamensis* in the Longgang Nature Reserve, China. *Acta Zoologica Sinica,* **53**(5): 791-799. [周岐海, 韦华, 黄中豪, 李友邦, 陆茂新, 黄乘明. 2007. 弄岗熊猴的活动节律和活动时间分配. 动物学报, **53**(5): 791-799.]

Zhou YB, Zhang L, Kaneko Y, Newman C, Wang XM. 2008a. Frugivory and seed dispersal by a small carnivore, the Chinese ferret-badger, *Melogale moschata*, in a fragmented subtropical forest of central China. *Forest Ecology and Management,* **255**(5-6): 1595-1603.

Zhou YB, Zhang JS, Slade E, Zhang LB, Palomares F, Chen J, Wang XM, Zhang SY. 2008b. Dietary shifts in relation to fruit availability among masked palm civets (*Paguma larvata*) in central China. *Journal of Mammalogy,* **89**(2): 435-447.

Zhu H. 2007. The karst ecosystem of southern China and its biodiversity. *Tropical Forestry,* **35**(S1): 44-47. [朱华. 2007. 中国南方石灰岩(喀斯特)生态系统及生物多样性特征. 热带林业, **35** (增刊): 44-47.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 152−159 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0152

拉沙山黑白仰鼻猴春季食物化学成分及其对食物选择的影响

张颖俊[1,#]，王双金[1,#]，郭爱伟[1]，陈粉粉[1]，崔亮伟[1,*]，肖 文[2,*]

1. 西南林业大学 林学院，云南 昆明 650224；
2. 大理学院 东喜玛拉雅资源与环境研究所，云南 大理 671003

摘要：叶食性灵长类食物选择受食物常量营养物质、微量营养元素及其次生代谢产物等影响，但较少有研究阐释植物的化学成分效应。该研究通过分析拉沙山黑白仰鼻猴群春季 (2010 年 3 月—5 月和 2011 年 3 月—5 月) 食物来阐明影响食物选择的植物化学成分。春季，猴群通过采食高质量食物 (芽和嫩叶) 来满足其营养需求，且偏好高磷和低钙/磷比(Ca/P)、低钙及低单宁食物。食物的磷和粗蛋白含量高于非食物，总糖和 Ca/P 低于非食物，而粗脂肪、粗灰分、钙和单宁含量则无差异；即在单宁含量未超过其忍受阈值的前提下，猴群春季食物选择原则是在满足蛋白质主导的常量营养物质需求基础上保证磷钙摄入。

关键词：黑白仰鼻猴；植物化学成分；磷；Ca/P；食物选择
中图分类号：Q959.848 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0152-08

Spring food selection by *Rhinopithecus bieti* at Mt. Lasha in relation to phytochemical components

Ying-Jun ZHANG[1,#], Shuang-Jin WANG[1,#], Ai-Wei GUO[1], Fen-Fen CHEN[1], Liang-Wei CUI[1,*], Wen XIAO[2,*]

1. *Forestry Faculty*, *Southwest Forestry University, Kunming* 650224, *China*；
2. *Institute of Eastern-Himalaya Biodiversity Research*, *Dali University*, *Dali* 671003, *China*

Abstract: Food selection by folivorous primates is thought to relate to macronutrients, micronutrients and plant secondary metabolites. However, few studies explain their effects on food choices. This study was designed to clarify the effect of phytochemical components on *Rhinopithecus bieti* food choice by analyzing the chemical composition of food samples collected from March to May in 2010 and 2011 at Mt. Lasha in northwest Yunnan, China. Compared with non-foods, there was more phosphorous and crude protein, less total sugar and a lower ratio of calcium to phosphorus in selected foods. However, no differences were found in crude fat, crude ash, calcium and tannin content between foods and non-foods. Phytochemical constituents may influence food choices; the monkeys preferred foods with high phosphorus and low Ca/P, low calcium, low sugar and low tannins. *Rhinopithecus bieti* foraged high quality foods such as buds and young leaves to meet their nutritional needs after a long winter. Therefore, if tannin content in food did not exceed the enduring threshold of *R. bieti*, the nutrient intake was prioritized by phosphorus and calcium regulation when the need for macronutrients dominated by protein was satisfied.

Keywords: *Rhinopithecus bieti*; Phytochemical content; Phosphorous; Ca/P; Food choice

灵长类食物营养直接影响其生存、繁殖、抗病能力及寿命等 (Hladik, 1981)，其食物选择旨在满足不同的营养目的：(1) 最大程度地摄取食物中的能量 (Emlen, 1966；Schoener, 1971;)；(2) 摄取最大量的蛋白质 (Mattson, 1980)；(3) 减少/回避高纤维食物 (Milton, 1979)；(4) 减少次生代谢产物摄入 (Freeland & Janzen, 1974)；(5) 平衡营养物质 (Raubenheimer & Simpson, 2004) (Guo et al, 2011)。

收稿日期：2013-02-07；接受日期：2013-03-20
基金项目：国家自然科学基金 (31160422，30960084, 30960085)；教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-12-1079)；云南省重点学科野生动植物保护与利用 (XKZ200904)
#共同第一作者 (Authors contributed equally to the work)
*通信作者 (Corresponding authors)，E-mail: gcuilw@gmail.com; xiaowen.dali@gmail.com
第一作者简介：张颖俊 (1985−)，女，硕士生，研究方向：灵长类营养生态学。E-mail：azhangyingjun@163.com

有机体对特定常量和微量营养物质的需求与物种、个体大小、新陈代谢需求、生活方式和消化系统等有关 (Parra, 1978; Milton, 1993)。因此，不同物种基于其特定的营养需求选择特异的食物实现营养目标 (Felton et al, 2009)。

灵长类选择食物时优先考虑食物的营养参数(如营养成分种类、含量及配置等)(Felton et al, 2009)。如尽管疣猴的食物选择受食物形态、生理和生态等因素影响，但主要与蛋白质和纤维含量相关(特别是树叶蛋白质及其可消化性，以及食物粗蛋白/纤维素比 (CP/ADF)(Felton et al, 2009; Guo et al, 2011；Kirkpatrick, 1996; Kirkpatrick, 2007；Milton, 1979; Oates et al, 1980)。乌干达红疣猴 (*Piliocolobus tephrosceles*) 喜食富含蛋白质 (15%～25%) 的果实 (Waterman & Kool, 1994)，戴帽叶猴 (*Presbytis pileatus*) 喜食高蛋白、低纤维的嫩叶和芽 (Stanford, 1991)，黑疣猴 (*Colobus satanas*) 采食的种子量与其蛋白质含量相关 (McKey et al, 1981)；塔那河红疣猴 (*Procolobus badius rufomitratus*)、 银叶猴 (*Trachypithecus auratus sondaicus*)及西非黑白疣猴 (*C. polykomos*) 等不偏好高蛋白质食物 (Mowry et al, 1996；Kool, 1992；Dasilva, 1994)；红疣猴 (*P. badius*) 和东非黑白疣猴 (*C. guereza*) 选择高蛋白质、低纤维食物 (*R. bieti*: Huang et al, 2010; Li & Yang, 2009; Wasseman & Chapman, 2003)；栗红叶猴 (*P. rubicunda*)、黑脊叶猴 (*P. melalophos*) 和 黑白仰鼻猴 (*R. bieti*) 等选择蛋白质和 CP/ADF 低的食物 (Davies et al，1988; Kirkpatrick, 1996)；红疣猴 (*P. badius*) 和 黑叶猴 (*T. francoisi*) 的食物选择则与蛋白质/纤维比无关 (Chapman et al, 2002; Li, 2010)。体型和胃容量小的疣猴可通过增加食物在体内的滞留时间从高纤维含量食物中获取营养 (Kay & Davies, 1994)，而也有疣猴喜食低纤维食物 (Chapman et al, 2003; Maisels et al, 1994)；西非黑白疣猴 (*C. polykomos*) 季节性采食高能量食物 (Dasilva, 1994)。

动物的食物选择受植物次生代谢产物 (plant secondary metabolites, PSM) 含量及化学组成影响。有研究认为 PSMs 抑制食物选择 (Glander, 1981; Oates et al, 1977)，有些则无法确定其作用 (Chapman et al, 2002；Davies et al,1988; Ganzhorn, 1989; Kool, 1992; Maisels et al, 1994; Marks et al, 1988; Milton, 1979; Mowry et al, 1996; Waterman et al, 1988)。

此外，矿物元素对动物的生长、繁殖和健康也具有重要意义。矿物质可获得性可限制乌干达热带雨林果食性灵长类种群增长 (Rode et al, 2006)，并决定其食物选择 (Felton, 2009)。矿物元素缺乏中最普遍存在的磷缺乏意味着磷最易成为食物选择的限制因素，动物生长繁殖、妊娠和哺乳必须保证食物中磷、钙及维生素 D 保持平衡 (IPNI, 1999)。因此，灵长类在选择食物时需在满足常量及微量营养物质需求的同时最大限度降低次生代谢产物的影响。

目前，多数研究试图通过分析食物与非食物化学成分差异来阐明疣猴食物选择与其化学成分间的关系。Kirkpatrick (1996) 认为白马雪山黑白仰鼻猴倾向于取食低 CP/ADF 食物。龙马山黑白仰鼻猴冬季喜食高 CP/ADF、低单宁食物 (Li & Yang, 2009)，秋季则偏好取食高 CP/ADF、低纤维素及高灰分食物 (Huang et al, 2010)。麻阳河黑叶猴秋、冬及春季食物选择与其水分、粗蛋白、粗纤维、ADF 含量和 CP/ADF 无关 (Cai et al, 2011; Li, 2010)。通常，食物的常量、微量营养元素和次生代谢产物将综合影响灵长类食物选择 (McKey et al, 1981; Waterman & Choo, 1981; Waterman, 1984)。因此，本研究拟通过化学成分主成分分析来阐明影响拉沙山黑白仰鼻猴春季食物选择的主要因素，为迁地保护个体的食物设计和改善，以及野生种群 (食物) 保护管理提供依据。

1　材料与方法

1.1　研究地点

研究地位于云南省怒江州兰坪县云岭省级自然保护区拉沙山 (N26°20′, E99°15′)。拉沙山黑白仰鼻猴群活动于海拔 2900～3500 m 的林带内 (<2800 m 为村庄/耕地，>3600 m 为高山牧场和裸地)，种群大小～130 只，由 11 个单雄多雌单位和 1 个全雄群组成，家域面积～11 km^2。猴群生境斑块化明显，家域内有牧场、火烧地和烧炭地 (砍伐栎树烧炭)。猴群活动区域植被随海拔从低到高呈带状分布，依次为针阔混交林、阔叶落叶林和暗针叶林，年均温度 11.79 ℃ (4.4～7.5℃)，5—10 月为雨季, 降水量占全年的 79%，11 月—翌年 4 月为干季 (Huang, 2009)。

1.2　研究方法

1.2.1　样品采集及保存

在猴群活动区域对面的突出高点，借助单筒望

远镜采用 10 min 瞬时扫描取样法 (Altmann, 1974) 记录猴群采食食物种类和部位 (花、叶、芽、果实和种子等)，采集标本并带回实验室鉴定；同时，每隔 30 min 在地形图 (1: 50000) 上记录猴群中心位置。共采集猴群春季 (2010 年 3—5 月和 2011 年 3—5 月) 食物 24 种 (55 个样品)，非食物 13 种 (15 个样品)。跟踪观察猴群，在猴群集中利用生境斑块的海拔中线随机选取 3～5 棵食物树种 (胸径为斑块中食物树胸径的众数)，从其树冠中线采集食物样品，包括花、芽和叶。非食物指猴群活动区域内分布广和重要值大，或与食物同属一科但在观察期间未被采食的植物 (Yeager et al, 1997)。每种植物每次采集的样品鲜重≥500 g。新鲜样品灭活 (120 ℃烘箱，10～15 min) 后密封保存；带回实验室后将样品置于瓷盘中在 60～65 ℃烘箱中烘干 8～12 h，取出瓷盘置于空气中冷却 24 h，充分回潮后称重；将装有样品的瓷盘放入 60～65 ℃烘箱内再次烘干 2 h，取出瓷盘回潮 24 h 后称重；粉碎机粉碎 (过 40 目筛) 制成半干样品，放入密封袋中，并贴上标签 (物种名、采食部位、采集时间、地点和海拔等) 备用 (Zhang, 2003)。

1.2.2 营养成分测定

直接干燥法测定水分，凯氏定氮法测定粗蛋白，索氏抽提法测定粗脂肪，马福炉灼烧法测定灰分，高锰酸钾滴定法测定钙，钼黄法测定磷 (Zhang, 2003)，蒽酮比色法测定水溶性总糖，磷钼酸-钨酸钠 (F-D) 比色法测定 (Zhu & Xia, 2003) 单宁。

1.2.3 数据处理

食物化学成分含量的百分比数据经 2arcsin [Sqrt (*Xi*)] 转化以满足正态分布 (Lehner, 1998)；*t*-test 分析食物与非食物化学成分差异；主成分分析确定影响猴群食物选择的主要植物化学成分；偏相关 (partial correlations analysis) 分析食物磷与蛋白质、磷与 Ca/P 的相关性；one-way ANOVA 分析植物不同取食部位的化学成分差异；卡方检验分析不同食物种类采食频次的月间差异。以觅食时间 (食物种类/部位的时间百分数) 作为食物选择指标 (Kar-Gupta & Kumar, 1994)，化学成分含量用干重表示，每份样品均进行两次平行测定来检验数据的准确度，并在设定的误差范围内以均值进行分析统计 (Zhang, 2003; Zhu & Xia, 2003)。

2 结 果

2.1 食物与非食物化学成分差异

春季食物磷和粗蛋白含量＞非食物 (磷：t_{68}=3.95, P<0.001；粗蛋白：t_{68}=3.88, P<0.001)，总糖和钙/磷比＜非食物 (总糖: t_{68}=3.27, P=0.001；Ca/P: t_{68}=4.41, p<0.001)，而食物与非食物的粗脂肪、粗灰分、钙和单宁含量无差异 (粗脂肪: t_{68}=1.26, P=0.21; 粗灰分: t_{68}=1.21, P=0.23; 钙: t_{68}=1.90, P=0.06; 单宁: t_{68}=0.33, P=0.75) (表 1)。

表 1 拉沙山黑白仰鼻猴春季食物与非食物化学成分比较 (干物质)

Table 1 Comparison of phytochemical content between non-foods and foods of *Rhinopithecus bieti* at Mt. Lasha in spring (dry matter)

变量 Variable	食物 Food (n=55)	非食物 Non-food (n=15)	t-test
粗蛋白 Crude Protein (%)	21.92±8.84	12.48±7.07	t_{68}=3.88, P<0.001
粗脂肪 Crude fat (%)	5.75±2.63	4.90±1.74	t_{68}= 1.26, P=0.21
总糖 Total sugar (%)	5.56±3.73	9.35±5.74	t_{68}= 3.27, P<0.001
灰分 Ash (%)	7.03±2.33	6.25±3.17	t_{68}= 1.21, P=0.23
钙 Calcium (%)	1.12±0.48	1.42±0.66	t_{68}= 1.90, P=0.062
磷 Phosphorus (%)	0.46±0.23	0.22±0.22	t_{68}= 3.95, P<0.001
单宁 Tannin (%)	6.60±2.83	6.20±2.61	t_{68}= 0.33, P=0.75
钙/磷 Ca/P	4.08±4.39	10.61±7.49	t_{68}= 4.41, P<0.001

2.2 食物化学成分主成分分析

第一、第二和第三主成分 (principal component 1,2,3; PC1, PC2, PC3) 贡献率分别为 42.6 %、20.0% 和 15.1%，累积为 77.7%，说明食物化学成分中有主要成分影响食物选择。PC1 为磷含量和 Ca/P，PC2 为钙含量，PC3 为单宁含量 (表 2)。食物中磷与蛋白质正相关 (r_p=0. 61, P<0.001)，磷与 Ca/P 弱相关 (r_p=-0.40, P<0.01)。因此，拉沙山黑白仰鼻猴春季偏好高磷/蛋白质比、低 Ca/P 和低单宁食物。

2.3 食物不同取食部位化学成分差异

松萝 (*Byrioria* spp.) 中蛋白质、灰分、糖和磷含量低，Ca/P 高。芽富含磷和蛋白质，缺乏钙，且

Ca/P 低；芽、叶及花的单宁含量无差异；花中糖含量最高，芽与叶无差异；叶的粗灰分含量最高，花与芽无差异；花的粗脂肪含量最高，叶最低；芽的蛋白含量最高，其次为叶和花 (表 3)。

表 2　拉沙山黑白仰鼻猴春季食物化学成分主成分分析特征向量负载

Table 2　Principal component loadings of phytochemical content of foods used by *Rhinopithecus bieti* at Mt. Lasha in spring

编号 Code	变量 Variable	PC1	PC2	PC3
1	单宁 Tannin (%)	0.38	0.06	−0.72
2	总糖 Total sugar (%)	−0.40	0.09	−0.72
3	灰分 Ash (%)	0.56	−0.70	0.09
4	磷 Phosphorus (%)	0.93	−0.06	−0.02
5	钙 Calcium (%)	−0.17	−0.83	0.22
6	粗脂肪 Crude fat(%)	−0.23	0.62	0.45
7	粗蛋白 Crude protein (%)	0.92	−0.15	0.11
8	钙/磷 Ca/P	−0.85	0.00	0.39
	特征值 Eigen value	3.14	1.60	1.47
	贡献率 Variance (%)	42.59	20.00	15.06
	累计贡献率 Cumulative variance (%)	42.59	62.59	77.65

表 3　拉沙山黑白仰鼻猴春季食物不同取食部位化学成分对比 (mean±*SE*) (干物质)

Table 3　Comparison of phytochemical content of different parts of foods used by *Rhinopithecus bieti* at Mt. Lasha in spring (mean±*SE*) (dry matter)

种类 Class	花 Flowers[1] (*n*=12)	芽 Buds (*n*=12)	嫩叶 Young leaves (*n*=27)	ANOVA	松萝 Lichen[2] (*n*=4)
粗蛋白 Crude protein (%)	17.77[a]±7.00	29.85[b]±4.90	22.55[c]±7.52	$F_{2,48}$=9.10, *P*<0.001	6.32±1.30
粗脂肪 Crude fat (%)	7.26[a]±3.74	5.68[ac]±1.89	4.72[c]±1.41	$F_{2,48}$=5.41, *P*<0.01	8.46±3.80
总糖 Total sugar (%)	8.78[a]±6.00	5.06[b]±1.81	4.69[b]±2.39	$F_{2,48}$=5.74, *P*<0.01	3.23±0.74
灰分 Ash (%)	6.17[a]±2.05	6.79[a]±1.31	8.26[c]±1.76	$F_{2,48}$=7.77, *P*<0.01	2.13±0.51
钙 Calcium (%)	1.15[ab]±0.35	0.89[a]±0.33	1.26[b]±0.55	$F_{2,48}$=3.07, *P*=0.056	0.81±0.21
磷 Phosphorus (%)	0.41[a]±0.20	0.68[b]±0.10	0.45[a]±0.19	$F_{2,48}$=7.68, *P*<0.01	0.05±0.008
单宁 Tannin (%)	6.81[a]±1.68	7.57[a]±2.46	6.89[a]±2.80	$F_{2,48}$=0.32, *P*=0.73	1.16±0.43
钙/磷 Ca/P	3.51[a]±1.90	1.33[b]±0.46	3.68[a]±2.92	$F_{2,48}$=6.49, *P*<0.01	16.77±3.25

[1] abc 相同字母间无差异，相异字母间有差异。[1] Same letters among a, b and c indicate no difference, otherwise display differences.

[2] 松萝样本小，未进行统计分析。[2] Lichen was not used to make statistical analysis due its small sample size.

2.4　食物部位采食频次

春季，猴群采食松萝频次最高 (58.57%)，芽次之 (28.66%)，且采食种类存在月间差异 (χ_8^2=1090.8, *P*<0.001)。3 月采食松萝频次最高，其次是芽；4 月偏好芽，其次为松萝；5 月松萝采食频次最高，其次为芽和叶 (表 4)。因此，猴群春季除采食松萝外，3 月开始觅食芽，4 月主食芽，5 月主食芽和叶。

表 4　拉沙山黑白仰鼻猴春季不同食物种类采食频次

Table 4　Frequencies of different kinds of foods used by *Rhinopithecus bieti* at Mt. Lasha in spring

月份 Month	花 Flower	芽 Bud	叶 Leaf	松萝 Lichen	其他 Others	总和 Total
3	3	73	3	724	27	830
4	14	951	49	686	9	1709
5	45	389	303	779	2	1518
总和 Total	62	1413	355	2 189	38	
	χ_8^2=1 090.8, *P*<0.001					

3 讨 论

拉沙山黑白仰鼻猴春季食物蛋白质含量高于非食物，与前人研究结果一致 (McKey et al, 1981; Waterman & Kool, 1994)。龙马山黑白仰鼻猴群冬季食物与非食物蛋白质含量无差异 (Huang et al, 2010; Li & Yang, 2009)，可能与猴群生态环境、食物资源供给性及其组成和研究时期不同有关。

食物化学组成主成分分析表明存在影响食物选择的主要化学成分，由于食物中磷与蛋白质正相关，与 Ca/P 弱相关，因此，首要因素是磷和 Ca/P，其次为钙及单宁。即拉沙山黑白仰鼻猴春季喜食高磷、低 Ca/P、低钙和低单宁食物。

氮 (蛋白质) 是影响动物生长的首要因素 (Chapin, 1980)。人类和非人灵长类生长缓慢、奶水产量低等导致个体对蛋白质需求相对较少，同时，灵长类生长繁殖对营养物质的需求分散在较长的时期内；因此，当食物氨基酸组成均衡时，灵长类并非必需高蛋白质食物 (Oftedal et al, 1991)。与个体性别、果实可获得性、食物中树叶比例以及膳食单宁摄入量无关，蜘蛛猴 (*Ateles chamek*) 每日蛋白质摄入量保持相对恒定，所以食物选择优先调控蛋白质 (而非碳水化合物和脂肪) 摄入量 (Felton et al, 2009)。拉沙山黑白仰鼻猴群食物蛋白质含量是影响食物选择的重要因素，因此，春季食物选择需满足蛋白质需求。

磷、钾是除氮 (蛋白质) 外影响动物生长最重要的限制性矿物质元素 (Chapin, 1980)。磷缺乏是所有矿物元素缺乏中最普遍的现象，所以动物生命活动必须保证食物中磷、钙及维生素 D 保持平衡 (IPNI, 1999)。某些疣猴主食 (包括落叶树老叶和嫩叶) 的钙、钠含量正相关，钙、钠与粗蛋白、磷及钾负相关；而水分、粗蛋白、能量、磷与钾相互正相关 (Baranga, 1983)。拉沙山黑白仰鼻猴春季食物磷含量高于非食物，在满足蛋白质需求的基础上，磷是影响其食物选择的首要因素 (第一主成分负荷值最大)。

食物中钙、磷含量和 Ca/P 最佳 (1:1～2:1) 时，动物能较好地利用钙、磷 (NRC, 1978，King & Bendell, 1982)。笼养猕猴生长期最适 Ca/P 为 1.2 (Lou et al, 2004)，而 Bai Hokou 西部低地大猩猩则喜食低钙、低磷水果 (Remis et al, 2001)。拉沙山黑白仰鼻猴群春季食物 Ca/P 通常是其他动物最适范围最大值的两倍，与钙含量 (低钙：第二主成分) 共同影响其食物选择。

当食物单宁含量在动物可忍受阀值内，食物选择主要受能量、蛋白质 (包括特殊氨基酸)、毒素及影响消化过程的物理特征影响，相反，若单宁超过其阀值，动物则放弃采食 (Clutton-Brock, 1977; Oates et al, 1980; Wrangham & Waterman, 1981)。拉沙山黑白仰鼻猴春季食物与非食物单宁含量无差异，龙马山黑白仰鼻猴冬季食物与非食物总酚含量无差异 (Huang et al, 2010)。拉沙山黑白仰鼻猴春季食物单宁含量在其可忍受阈值内，是影响其食物选择的第三主成分。

随着树叶的成熟，其水分、蛋白质和许多重要矿物质元素 (如磷和钾) 含量逐渐降低，而纤维素/木质素、钙、钠 (Baranga, 1983; Baranga, 1986; Coley & Aide, 1991) 、镁及锰的含量增加 (Yeager et al, 1997)。同种植物嫩叶纤维素含量低于老叶 (Milton, 1979; McKey et al, 1981)，更易消化 (Baranga, 1986)，且两者的次生代谢产物无差别 (Chapman et al, 2004; Workman, 2010)。因此，尽管植物芽、花和嫩叶持续期短，许多灵长类仍然偏好高蛋白质和高蛋白质/纤维比的嫩叶 (Baranga, 1983; Chapman et al, 2004; Coley, 1982; McKey et al, 1981; Oates et al, 1977, 1980; Oates, 1987; Solanki et al, 2008; Workman, 2010; Yeager, 1989; Yeager et al, 1997)。拉沙山黑白仰鼻猴群春季偏好富含磷和粗蛋白、低 Ca/P (1.33) 和低钙的嫩芽和嫩叶。长鼻猴偏好采食富含磷的植物，且食物钙含量低于推荐的灵长类食物钙含量，这可能与食物钙、磷含量负相关有关。因此，猴群采食高磷食物意味着必须进食低钙食物 (Yeager et al, 1997)。

某些动物具有应对食物季节性变化的适应机制，但温带地区动物在秋末和冬季由于被迫采食低质量食物而遭受营养压力 (Short, 1975)。在某种特定营养物质不受限制时，动物不通过食物选择来获取特定营养物质 (Yeager et al, 1997)。黑白仰鼻猴是生活海拔最高的非人灵长类之一，且面临漫长冬季食物匮乏和低温的生存压力，主食松萝 (Ding & Zhao, 2004; Kirkpatrick, 1996; Huang et al, submitted) 和老叶/树皮 (Xiang et al, 2007)。松萝分布广泛，全年均可被采食，为高非结构性碳水化合物、低蛋白质、低纤维素、低单宁 (Kirkpatrick, 1996) 、低磷及高 Ca/P 食物。黑白仰鼻猴春季通过采食嫩芽/嫩

叶 (富含粗蛋白、磷、钾及锌) (Yeager et al, 1997) 来满足其蛋白质和必须营养物质需求 (Krishnamani, 1994; Kumar & Solanki, 2004; Struhsaker, 1975)。因此，拉沙山黑白仰鼻猴群春季食物选择是在食物单宁含量未超过忍受阈值的前提下、在满足蛋白质主导的常量营养物质需求的基础上保证磷、钙摄入。

疣猴类食物蛋白质/纤维比是衡量食物质量的重要指标 (Mckey et al, 1981; Waterman & Choo, 1981)。龙马山黑白仰鼻猴冬季选择高粗蛋白/粗纤维比食物 (Li & Yang, 2009; Huang et al, 2010)。本研究尽管未测定食物纤维素，但嫩芽/嫩叶蛋白质含量高而纤维素含量低 (Stanford, 1991; Kirkpatrick, 1996)。因此，拉沙山猴群春季选择高蛋白、低纤维食物。

拉沙山黑白仰鼻猴春季食物与非食物粗灰分无差异，而龙马山黑白仰鼻猴冬季倾向于选择高灰分食物 (Huang et al, 2010)。粗灰分主要成分为矿物质，可为动物提供所需的微量元素 (Li, 2010)。因此，龙马山猴群冬季食物矿物质元素可能与其食物选择有一定的关系。

野外新鲜样品通过萃取进行分析可避免类似单宁等物质的含量在干燥条件发生变化 (Hagerman, 1988)，同时可以测定其在食物中的真实浓度，但弊端是植物不同部位的化学成分未经标准化处理 (Yamashita, 2008)。本研究采用标准化处理来确定单宁含量。由于植物嫩芽和嫩叶水分含量高，因此，标准化处理提高了其单宁含量，在某种程度上提升了单宁对春季食物选择的影响作用。此外，在未掌握松萝水分含量季节性变化的基础上，无法评判标准化处理对松萝单宁含量的影响。因此，只有在野外通过萃取分析测定其含量才能准确确定其影响。

致谢：云南省怒江州兰坪云岭省级自然保护区管理局给予了本研究大力支持；大山箐社区居民给予野外工作帮助；野外助手苏庆生和张金福协助完成了野外工作，在此一并表示衷心感谢！

参考文献：

Altmann J. 1974. Observational study of behavior: Sampling methods. *Behaviour,* **49**(3): 227-267.

Baranga D. 1983. Changes in chemical composition of food parts in the diet of Colobus monkeys. *Ecology,* **64**(4): 668-673.

Baranga D. 1986. Phenological observation on two food-tree species of colobus monkeys. *African Journal of Ecology,* **24**(4): 209-214.

Cai RF, Hu G, Cao Y, Yang JL, Su XW, Chen B, Liu XG, Liu N. 2011. Nutritional contents of the major food in autumn and its influence on food choice of Francois' Langur at Mayanghe Nature Reserve, Guizhou Province. *Sichuan Journal of Zoology,* **30**(3): 366-371. [蔡锐芳, 胡刚, 曹晔, 杨进良, 苏欣慰, 陈波, 刘先高, 刘宁. 2011. 贵州麻阳河黑叶猴秋季主要食物营养分析及对食物选择的影响. 四川动物, **30**(3): 366-371.]

Chapin FS III. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics,* **11**: 233-260.

Chapman CA, Chapmen LJ, Bjorndal KA, Onderdonk DA. 2002. Application of protein-to-fiber ratios to predict colobine abundance on different spatial scales. *International Journal of Primatology,* **23**(2): 283-310.

Chapman CA, Chapman LJ, Rode KD, Hauck EM, McDowell LR. 2003. Variation in the nutritional value of primate foods: Among trees, time periods, and areas. *International Journal of Primatology,* **24**(2): 317-333.

Chapman CA, Chapman LJ, Naughton-Treves L, Lawes MJ, McDowell LR. 2004. Predicting folivorous primate abundance: validation of a nutritional model. *American Journal of Primatology,* **62**(2): 55-69.

Clutton-Brock TH. 1977. Methodology and measurement. *In*: Clutton-Brock TH. Primate Ecology: Studies of Feeding and Ranging Behaviour in Lemurs, Monkeys and Apes. New York: Academic Press, 325-353.

Coley PD. 1982. Rates of herbivory in different tropical trees. *In*: Leigh EG, Rand AS, Windsor DM. The Ecology of a Tropical Forest. Washington: Smithsonian Institute Press, 123-132.

Coley PD, Aide TM. 1991. Herbivory and defenses: A temperate/tropic comparison. *In*: Price PW, Lewison TM, Fernandes GW, Benson WW. Plant-animal Interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions. New York: John Wiley and Sons, Inc, 54-69.

Dasilva GL. 1994. Diet of *Colobus polykomos* on Tiwai Island: selection of food in relation to its seasonal abundance and nutritional quality. *International Journal of Primatology,* **15**(5): 655-680.

Davies AG, Bennett EL, Waterman PG. 1988. Food selection by two South-east Asian colobine monkeys (*Presbytis rubicunda* and *Presbytis melalophos*) in relation to plant chemistry. *Biological Journal of the Linnean Society,* **34**(1): 33-56.

Ding W, Zhao QK. 2004. *Rhinopithecus bieti* at Tacheng, Yunnan: diet and daytime activities. *International Journal of Primatology,* **25**(3): 583-598.

Emlen JM. 1966. The role of time and energy in food preference. *American Naturalist,* **100**(916): 611-617.

Felton AM, Felton A, Lindenmayer DB, Foley WJ. 2009. Nutritional goals of wild primates. *Functional Ecology,* **23**(1): 70-78.

Freeland WJ, Janzen DH. 1974. Strategies in herbivory by mammals: the role of plant secondary compounds. *American Naturalist,* **108**(961): 269-289.

Ganzhorn JU. 1989. Niche separation of seven lemur species in the Eastern rainforest of Madagascar. *Oecologia,* **79**(2): 279-286.

Glander KE. 1981. Feeding patterns in mantled howling monkeys. *In*: Kamil AC, Sargent TD. Foraging Behavior: Ecological, Ethological, and Psychological Approaches. New York: Garland Press, 231-259.

Guo ST, Ji WH, Chang HL, David R, Li BG. 2011. Processes in the study of primate nutritional ecology. *Acta Anthropologica Sinica,* **30**(4): 405-414. [郭松涛, 纪维红, 常鸿莉, David R, 李保国. 2011. 灵长类营养生态学的研究进展. 人类学学报, **30**(4): 405-414.]

Hagerman AE. 1988. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemical Ecology,* **14**(2): 453–461.

Hladik CM. 1981. Diet and evolution of feeding strategies among forest primates. *In*: Harding RSO, Teleki GP. Omnivorous Primates, Gathering and Hunting in Human Evolution. New York: Columbia University, 215-254.

Huang ZP. 2009. Foraging, Reproduction and Sleeping Site Selection of Black-and-white Snub-nosed Monkey (*Rhinopithecus bieti*) at the Southern Range. Master thesis, Kunming: Southwest Forestry College. [黄志旁. 2009. 黑白仰鼻猴 (*Rhinopithecus bieti*) 南部种群的摄食选择、繁殖及过夜地选择. 硕士学位论文, 昆明: 西南林学院.]

Huang ZP, Huo S, Yang SG, Cui LW, Xiao W. 2010. Leaf choice in black-and-white snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus bieti*) is related to the physical and chemical properties of leaves. *Current Zoology,* **56**(6): 643-649.

Huang ZP, Wang L, Scott MB, Cui LW, Xiao W. Behavioral response of *Rhinopithecus bieti* to habitat fragmentation: Implication of its conservation. Primates (submitted).

IPNI (International Plant Nutrition Institute). 1999. Phosphorus in animal nutrients. Better Crops, **1**: 32-33.

Kar-Gupta K, Kumar A. 1994. Leaf chemistry and food selection by common langurs (*Presbytis entellus*) in Rajaji National Park, Uttar Pradesh, India. *International Journal of Primatology,* **15**(1): 75-93.

Kay RNB, Davies AG. 1994. Digestive physiology. *In*: Davies G, Oates J. Colobine Monkeys: Their Ecology, Behavior and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press, 229-249.

King RD, Bendell JF. 1982. Foods selected by blue grouse (*Dendragapus obscurus fuliginosus*). *Canadian Journal of Zoology,* **60**(12): 3268-3281.

Kirkpatrick RC. 1996. Ecology and Behavior of the Yunnan Snub-nosed Langur (*Rhinopithecus bieti, Colobinae*). California: University of California.

Kirkpatrick RC. 2007. The Asian colobines: diversity among leaf-eating monkeys. *In*: Campbell CJ, Fuentes A, MacKinnon KC, Panger M, Bearder SK. Primate in Perspective. New York: Oxford University Press, 186-200.

Kool KM. 1992. Food selection by the silver leaf monkey, *Trachypithecus auratus sondaicus*, in relation to plant chemistry. *Oecologia,* **90**(4): 527-533.

Krishnamani R. 1994. Diet composition of the bonnet macaque (*Macaca radiata*) in a tropical dry evergreen forest of southern India. *Tropical Biodiversity,* **2**(2): 285-302.

Kumar A, Solanki GS. 2004. A rare feeding observation on water lilies (*Nymphaea alba*) by the capped langur (*Trachypithecus pileatus*). *Folia Primatologica,* **75**(3): 157-159.

Lehner PN. 1998. Handbook of Ethological Methods. Cambridge: Cambridge University Press.

Li W. 2010. Food Nutritional Contents in Winter, Spring and Corresponding Influences on Food Choice of Francois' langur at Mayanghe Nature Reserve. Master thesis. Kuming, Yunan. [李雯. 2010. 麻阳河黑叶猴冬、春季食物的营养分析及其对食物选择的影响. 硕士论文. 昆明, 云南.]

Li XY, Yang SJ. 2009. Winter food habits of the Yunnan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus bieti*) found at Mt. Longma, Yunnan. *Acta Anthropologica Sinica,* **28**(4): 391-400. [李学友, 杨士剑. 云南龙马山滇金丝猴 (*Rhinopithecus bieti*) 冬季食性分析. 人类学学报, **28**(4): 391-400.]

Lou SY, Yang LY, Li T, Li CE, Huang ZQ, He ZL. 2004. Effect of calcium to phosphorus ratio in its utilization in growing laboratory rhesus monkey. *Shanghai Laboratory Animal Science,* **24**(2): 77-80. [鲁帅尧, 杨亮宇, 李彤, 李菜娥, 黄璋琼, 和占龙. 2004. 饲料钙磷比对生长期猕猴钙磷利用率的影响. 上海实验动物科学, **24**(2): 77-80.]

Maisels F, Gauthier-Hion A, Gautier JP. 1994. Diets of two sympatric colobines in Zaire: More evidence on seed-eating in forests on poor soils. *International Journal of Primatology,* **15**(5): 681-701.

Marks DL, Swain T, Goldstein S, Richard A, Leighton M. 1988. Chemical correlates of rhesus monkey food choice: the influence of hydrolyzable tannins. *Journal of Chemical Ecology,* **14**(1): 213-235.

Mattson WJ Jr. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics,* **11**: 119-161.

McKey DB, Gartlan JS, Waterman PG, Choo GM. 1981. Food selection by black colobus monkeys (*Colobus satanas*) in relation to plant chemistry. *Biological Journal of the Linnean Society,* **16**(2): 115-146.

Milton K. 1979. Factors influencing leaf choice by howler monkeys: a test of some hypotheses of food selection by generalist herbivores. *American Naturalist,* **114**(3): 362-378.

Milton K. 1993. Diet and primate evolution. *Scientific American,* **269**(2): 86-93.

Mowry CB, Decker BS, Shure DJ. 1996. The role of phytochemistry in dietary choices of Tana River red colobus monkeys (*Procolobus badius rufomitratus*). *International Journal of Primatology,* **17**(1): 63-84.

NRC (National Research Council), 1978. Nutrient Requirements of Non-Human Primates. Washington: National Academy Press.

Oates JF. 1987. Food distribution and foraging behavior. *In*: Smuts BB, Cheney DL, Seyfarth RM, Wrangham RW, Struhsaker TT. Primate Societies. Chicago: University of Chicago Press, 197-209.

Oates JF, Swain T, Zantovska J. 1977. Secondary compounds and food selection by colobus monkeys. *Biochemical Systematics and Ecology,* **5**(4): 317-321.

Oates JF, Waterman PG, Choo GM. 1980. Food selection by the South Indian leaf-monkey, *Presbytis johnii*, in relation to leaf chemistry. *Oecologia,* **45**(1): 45-56.

Oftedal OT, Whiten A, Southgate DAT, van Soest P. 1991. The nutritional consequences of foraging in primates: The relationship of nutrient intakes to nutrient requirements. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*: *Biological Sciences,* **334**(1270): 161-170.

Parra R. 1978. Comparison of foregut and hindgut fermentation in herbivores. *In*: Montgomery GG. The Ecology of Arboreal Folivores. Washington: Smithsonian Institution Press, 205-230.

Raubenheimer D, Simpson SJ. 2004. Organismal stoichiometry: Quantifying non-independence among food components. *Ecology,* **85**(5):

1203-1216.

Remis MJ, Dierenfeld ES, Mowry CB, Carroll RW. 2001. Nutritional aspects of western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) diet during seasons of fruit scarcity at Bai Hokou, Central African Republic. *International Journal of Primatology,* **22**(5): 807-836.

Rode KD, Chapman CA, McDowell LR, Stickler C. 2006. Nutritional correlates of population density across habitats and logging intensities in redtail monkeys (*Cercopithecus ascanius*). *Biotropica,* **38**(5): 625-634.

Schoener TW. 1971. Theory of feeding strategies. *Annual Review of Ecology and Systematics,* **2**: 369-404.

Short HL. 1975. Nutrition of Southern deer in different seasons. *Journal of Wildlife Management,* **38**(2): 321-329.

Solanki GS, Kumar A, Sharma BK. 2008. Feeding ecology of *Trachypithecus pileatu*s in India. *International Journal of Primatology,* **29**(1): 173-182.

Stanford CB. 1991. Social dynamics of intergroup encounters in the capped langur (*Presbytis pileata*). *American Journal of Primatology,* **25**(1): 35-47.

Struhsaker TT. 1975. The Red Colobus Monkeys. Chicago: University of Chicago Press.

Wasserman MD, Chapman CA. 2003. Determinants of colobine monkey abundance: the importance of food energy, protein and fibre content. *Journal of Animal Ecology,* **72**(4): 650-659.

Waterman PG. 1984. Food acquisition and processing as a function of plant chemistry. *In*: Chaviers DJ, Wood BA, Bilsborough A. Food Acquisition and Processing in Primate. New York: Plenum Press, 177-211.

Waterman PG, Choo GM. 1981. The effects of digestibility-reducing compounds in leaves on food selections by some Colobinae. *Malaysian Applied Biology Journal,* **10**: 147-162.

Waterman PG, Kool KM. 1994. Colobine food selection and plant chemistry. *In*: Davies AG, Oates JF. Colobine Monkeys: Their Ecology, Behaviour and Evolution. England: Cambridge University Press, 51-84.

Waterman PG, Ross JAM, Bennett EL, Davies AG. 1988. A comparison of the floristics and leaf chemistry of the tree flora in two Malaysian rain forests and the influence of leaf chemistry on populations of colobine monkeys in the Old World. *Biological Journal of the Linnean Society,* **34**(1): 1-32.

Workman PG. 2010. The Foraging Ecology of the Delacour's Langur (*Tranchypithecus delacouri*) in Van Long Nature Reserve, Vietnam. Dissertation, Duke University.

Wrangham RW, Waterman PG. 1981. Feeding behaviour of vervet monkeys on *Acacia tortilis* and *Acacia xanthophloea*: with special reference to reproductive strategies and tannin production. *Journal of Animal Ecology,* **50**(3): 715-731.

Xiang ZF, Huo S, Xiao W, Quan RC, Grueter CC. 2007. Diet and feeding behavior of *Rhinopithecus bieti* at Xiaochangdu, Tibet: Adaptations to a marginal environment. *American Journal of Primatology,* **69**(10): 1141-1158.

Yamashita N. 2008. Chemical properties of the diets of two lemur species in southwestern Madagascar. *International Journal of Primatology,* **29**(2): 339-364.

Yeager CP. 1989. Feeding ecology of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *International Journal of Primatology,* **10**(6): 497-530.

Yeager CP, Silver SC, Dierenfeld ES. 1997. Mineral and phytochemical influences on foliage selection by the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*). *American Journal of Primatology,* **41**(2): 117-128.

Zhang LY. 2003. Analysis and Technique for Measuring Quality of Fodder. 2nd ed. Beijing: China Agricultural University Press. [张丽英. 2003. 饲料分析及饲料质量检测技术. 2 版. 北京：中国农业大学出版社.]

Zhu Y, Xia YN. 2003. Checkout of Fodder Quality. Beijing: Chemical Industry Press. [朱燕, 夏玉宇. 2003. 饲料品质检验. 北京：化学工业出版社.]

动　物　学　研　究　2013，Jun. 34(3): 160−165　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0160

高寒草甸常见雀形目鸟类共存机制的生态形态学解释

刘力华[1,2]，陈晓澄[1]，褚　晖[1,2]，孙嘉辰[1,2]，张晓爱[1]，赵　亮[1,*]

1. 中国科学院西北高原生物研究所 高原生物适应与进化重点实验室，青海 西宁　810001；
2. 中国科学院大学，北京　100049

摘要：生态形态学特征是生物在选择压力下长期进化的结果，对生物的生存和繁衍具重要影响。为使种间竞争最小化，同质环境中关系密切的物种一般具有不同的生态形态学特征，以实现对有限资源的分割。1983—2012 年，对高寒草甸生态系统中常见的 9 种雀形目鸟类的生态形态学特征所进行的研究结果表明：9 种雀形目鸟类的各个生态形态学特征指标均具有显著差异；～92.0%的个体被正确归类，除小云雀（*Eremophila alpestris*，79.2%)外，其余各物种判别正确率均较高（84.5%~100%)，9 个物种被分成 5 个集团（guild)。各集团独特的生态形态学特征与集团内物种的栖息地环境和取食行为相关，最终解释了各个物种如何在高寒草甸生态系统中实现共存。

关键词：高寒草甸；雀形目鸟类；生态形态学；集团；共存
中图分类号：Q143; Q959.7⁺39　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)03-0160-06

Ecomorphological explanations of passerines coexistence in alpine meadow

Li-Hua LIU[1,2], Xiao-Cheng CHEN[1], Hui CHU[1,2], Jia-Chen SUN[1,2], Xiao-Ai ZHANG[1], Liang ZHAO[1,*]

1. *Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Xining*　810001, *China*
2. *University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing*　100049, *China*

Abstract: Species ecomorphological characteristics are the evolutionary results of selective pressures that have enabled individuals of a given species to survive and reproduce. Closely related species co-occurring in homogeneous environments should be morphologically distinct to partition limited resources, so as to minimize interspecific competition. From 1983 to 2012, we studied the ecomorphological characteristics of nine passerine species in alpine meadow. Results showed six ecomorphological characteristics of the nine species were significantly different. Approximately, 92.0% of samples were correctly classified and the correct rates ranged from 84.5% to 100.0%, except for the Oriental Skylark (*Eremophila alpestris*), which was 79.2%. Accordingly, the nine species were divided into five guilds based on their characteristics. Results indicated that the niches of all species were divergent, and the ecomorphological characteristics of the specific species in each guild were related to their habitats and foraging behaviors. These results also explained the possible mechanisms of different species coexistence in alpine meadow.

Keywords: Alpine meadow; Passerines; Ecomorphology; Guild; Coexistence

生态形态学特征是保证机体生存和繁殖的表型特征的集中体现（Miles & Ricklefs, 1984)，这些特征贯穿于个体的整个生活史。某一生态形态学特征与特定行为相关（Block et al, 1991; Miles et al, 1987)，是长期进化中对多个选择压力权衡的结果(Zeffer et al, 2003)。相同大生境中共存的鸟类，依据自身的生态形态学特征利用不同小生境的资源(Eckhardt, 1979; Noon, 1981)。鸟类群落中的不同物种对栖息地环境(Carrascal et al, 1990)、食物资源(Miles & Ricklefs, 1984; Miles et al, 1987）和繁殖条件等的要求不同，因此，生态形态学特征不同的物种具有相互分离的生态位（Brown & Bowers, 1985)，减弱了种间竞争(Cui & Deng, 2007; Guillemain et al, 2002)，最终实现共存。许多生态

收稿日期：2012-11-02；接受日期：2013-01-09
基金项目：国家自然科学基金（30400058)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: lzhao@nwipb.ac.cn
第一作者简介：刘力华，男，硕士研究生；研究方向：鸟类生态学；E-mail: flowersliulihua@163.com

学家将资源分割的决定性因素集中于栖息地结构复杂性和物种多样性 (Diamond, 1988)，这些理论的提出都依据同一假说，即潜在的生态位数量与栖息地环境结构多样性正相关 (Willson, 1974)，但个体生态形态学特征与其行为相关，特殊的生态形态学特征是对高效搜索资源能力的适应(Schluter & Smith, 1986)。这种适应在鸟类群落中以何种方式实现一直是关注的焦点，因此，我们试图用生态形态学特征来解释鸟类的共存机制。

极端环境 (高纬度、高海拔等地区)资源匮乏，生态相似物种间竞争激烈 (Lu et al, 2011; Zeng & Lu, 2009)。高寒草甸生态系统环境条件严酷，气候恶劣，太阳辐射强，昼夜温差大 (Li et al, 2004)，适合鸟类繁殖的季节短，牧草生长低矮，初级生产力低，群落结构简单 (Zhao, 2009)。生活在该环境中的鸟类选择以何种方式去适应，是鸟类生态学家一直关注的理论问题。已有的研究已经从群落结构 (Zhang, 1982; Zhang & Deng, 1986)、巢址选择 (Lu et al, 2011; Zhang et al, 2006; Zhao & Zhang, 2004)、窝卵数 (Zhang et al, 2003)、繁殖生产力(Zhang et al, 2000a)、幼鸟的生长发育 (Zhao & Zhang, 2005; Zhao et al, 2002c)、孵化行为 (Zhao et al, 2002a; Zhao et al, 2002b)和育幼行为 (Li et al, 2003; Zhao et al, 2003)等方面解释了高寒草甸雀形目鸟类共存的机制，但还未见关于鸟类生态形态学特征与其共存机制关系的报道。本文对高寒草甸生态系统中常见的 9 种雀形目鸟类的生态形态特征进行比较研究，分析这一鸟类群落中不同物种的生态形态特征差异，解释它们实现资源分割的机制，进而探究生态形态学特征与其共存的关系。

1　材料与方法

1.1　研究地点

1983—2012 年，该项研究在中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站进行。研究区域地处青藏高原东北隅，祁连山北支冷龙岭东段南麓的大通河河谷地区，地理位置为 N37°37′，E101°19′，海拔 3 200 m。气候类型为高原大陆性气候，夏季凉爽多雨，冬季寒冷干燥多风。年均温−1.7 ℃，最高温 (7 月)和最低温 (1 月)分别为 9.8 ℃和−14.8 ℃。年均降水量 580 mm，5—9 月降水占年降水量的 80% (Zhou, 2001)。主要植被类型有矮嵩草 (*Kobresia humilis*)草甸、金露梅 (*Potentilla fruticosa*)灌丛草甸和藏嵩草 (*Kobresia tibetica*)沼泽化草甸等，牧草生长低矮，群落结构简单 (Zhou & Li, 1982)。草地长期退化形成许多鼠洞，为穴居鸟类提供了潜在的巢址，低矮的灌丛是灌丛鸟类的主要栖木，沼泽化草甸为喜水鸟类提供了良好的栖息环境。

1.2　研究对象

本文研究涉及的角百灵 (*Eremophila alpestris*)、长嘴百灵 (*Melanocorypha maxima*)、小云雀 (*Alauda gulgula*)、粉红胸鹨 (*Anthus roseatus*)、黄头鹡鸰 (*Motacilla citreola*)、鸲岩鹨 (*Prunella rubeculoides*)、朱鹀 (*Urocynchramus pylzowi*)、黄嘴朱顶雀(*Carduelis flavirostris*)和地山雀(*Pseudopodoces humilis*)等 9 个物种是该地区鸟类群落的主要成分(Zhang & Deng, 1986)。它们的栖息地选择和繁殖策略不尽相同，繁殖期巢环境类型主要包括地下洞穴巢、地面穹隆巢和地上灌丛巢 (Zhang et al, 2006)等，繁殖策略包括高窝卵数、低生长率，低窝卵数、高生长率和居于二者之间的中间类型等(Zhang et al, 2000b)。

1.3　研究方法

本研究涉及的所有研究对象均为鸟类成体，部分数据为青藏高原标本馆的馆藏记录。分别用电子天平 (Acculab ALC210.2 电子天平，精度 0.01 g)和游标卡尺(Mitutoyo 游标卡尺 CD-12'CS 500-173，精度 0.01 mm) 测量了每个个体的体重 (BW)、体长(BL)、翅长 (WL)、尾长 (TL)、跗蹠长 (TML)和嘴峰长(CL)等生态形态学特征指标。

1.4　数据分析

统计检验前，用 Kolmogorov-Smirnov 和 Levene 统计量 (SPSS 17.0)分别检验所有数据的正态性和方差同质性，满足方差齐性时采用 *Duncan*-test 进行多重比较，不满足时采用 Dunnett's T3 法进行多重比较。以物种为因子的单因素方差分析 (one-way ANOVA)比较物种间各个生态形态学指标的差异。以 6 个生态形态特征指标为自变量对各个物种进行判别分析 (discriminant analysis DA)，估计物种间相似程度的大小，进而预测其栖息地资源分割和生态位重叠。为消除体型大小对其他指标的影响，判别分析中用体重的三次方根对体长、翅长、尾长和跗蹠长等进行标准化，并定义为相对长度($L'=L/BW^{1/3}$) (Amadon, 1943)，且由于嘴峰长与鸟类食物的大小有关 (Hespenheide, 1973)，故未对其进行标准化。所有数据在进一步分析前均进行对数转换($z'=\log z$，z：体重、嘴峰长和各相对长度指标)，以避免伴随

多元分析出现的与比例相关指标问题(log (a/b)=log a−log b)(Atchley et al, 1976)。数据以 mean±SE 表示，α=0.05 为差异显著，均为 two-tailed-test。

2 结 果

2.1 物种间生态形态学特征的差异分析

单因素方差分析结果表明，9 种高寒草甸雀形目鸟类的体重($F_{8,992}$=3823.9, P<0.05)、体长($F_{8,992}$=496.8, P<0.05)、翅长($F_{8,992}$=2265.9, P<0.05)、尾长 ($F_{8,992}$=194.0, P<0.05)、跗蹠长($F_{8,992}$=685.6, P<0.05)和嘴峰长 ($F_{8,992}$=1829.2, P<0.05)等均具显著差异。除朱鹀的翅长和地山雀的尾长最小外，长嘴百灵的各项生态形态学指标均为最大，黄嘴朱顶雀为最小(表 1)。

表 1 高寒草甸 9 种雀形目鸟类生态形态学特征的比较

Table 1 Comparison of ecomorphological characteristics of passerines in alpine meadow

物种 Species	样本数 N	体重(g) Body weight	体长(mm) Body length	翅长(mm) Wing length	尾长(mm) Tail length	跗蹠长(mm) Tarsus-metatarsus length	嘴峰长(mm) Culmen length
地山雀 *Pseudopodoces humilis*	112	37.758±0.2678^{b}	149.138±0.8141^{de}	84.913±0.3375^{d}	60.564±0.4769^{f}	30.459±0.1680^{b}	24.169±0.1380^{b}
粉红胸鹨 *Anthus roseatus*	52	21.813±0.3237^{f}	153.787±1.1698^{cd}	86.613±0.5717^{d}	67.335±0.8400^{d}	23.170±0.1816^{d}	12.301±0.1480^{e}
角百灵 *Eremophila alpestris*	234	34.452±0.1973^{c}	162.551±0.6514^{b}	109.198±0.3520^{b}	76.739±0.4841^{c}	23.320±0.0998^{d}	14.532±0.0768^{c}
长嘴百灵 *Melanocorypha maxima*	122	84.945±0.6964^{a}	203.997±1.3645^{a}	144.561±0.8541^{a}	85.095±0.8222^{a}	31.653±0.1670^{a}	25.101±0.1890^{a}
朱鹀 *Urocynchramus pylzowi*	36	18.448±0.3122^{h}	152.944±1.1622^{cde}	71.720±0.6266^{h}	81.051±0.9626^{ab}	23.868±0.2757^{d}	11.319±0.1404^{f}
鸲岩鹨 *Prunella rubeculoides*	110	23.446±0.3673^{e}	148.527±1.0400^{e}	76.457±0.3688^{f}	66.770±0.5267^{d}	23.448±0.1894^{d}	11.827±0.1149^{ef}
小云雀 *Alauda gulgula*	106	32.692±0.2526^{d}	155.359±0.8610^{c}	102.900±0.4372^{c}	67.465±0.4822^{d}	25.155±0.1627^{c}	14.711±0.1159^{c}
黄嘴朱顶雀 *Carduelis flavirostris*	112	13.090±0.0834^{i}	126.065±0.5052^{f}	74.422±0.2108^{g}	64.166±0.3862^{d}	17.031±0.1239^{e}	9.828±0.1009^{g}
黄头鹡鸰 *Motacilla citreola*	117	20.434±0.2018^{g}	165.034±0.9379^{b}	82.209±0.3957^{e}	78.701±0.4922^{bc}	25.753±0.2240^{c}	13.194±0.1250^{d}

数据以 Mean±SE 表示，标有相同字母的平均值差异不显著。

Values are Mean ± SE, means with the same letter are not significantly different.

2.2 生态形态学特征对物种的判别分析

利用 6 个生态形态学指标对本研究涉及的 9 种雀形目鸟类进行判别分析，前两个判别函数的特征值均>1，累积贡献率达 94.3% (表 2)。判别分析共得出 6 个典型判别函数，其中典型判别函数 1 的 BW' 变量的因子负荷系数绝对值最大，说明函数 1 主要反映了个体体重的大小；而典型判别函数 2 的 WL'和 CL' 两个变量的因子负荷系数绝对值较大，说明函数 2 主要反映了个体相对翅长和嘴峰长的大小 (表 3)。虽然典型判别函数 5 和 6 的 TL'、TML' 和 BL' 三个变量的因子负荷系数绝对值最大 (表 3)，但这两个函数的特征值均<1，贡献率也很小 (表 2)，对结果影响也相对较弱。因此，本文主要考虑第 1 和 2 两个判别函数。

判别分析结果表明，～92.0%的样本被正确归类，共产生 5 个集团：a 集团包括角百灵和小云雀，b 集团包括朱鹀、黄头鹡鸰、鸲岩鹨和粉红胸鹨等，其争 3 个集团均仅包含一个物种，分别为长嘴百灵、黄嘴朱顶雀和地山雀等(图 1)。除小云雀的判别分析正确率略低外 (76.4%)，其他物种的正确率均较高 (84.5%~100.0%)(表 4)。被错误归类的样本全

表 2 典型判别函数特征值

Table 2 Eigenvalues of canonical discriminant function

函数 Function	特征值 Eigenvalues	贡献率 Proportion of variance (%)	累积贡献率 Cumulative proportion (%)	正则相关性 Canonical correlation
1	41.222	77.3	77.3	0.988
2	9.066	17.0	**94.3**	0.949
3	2.086	3.9	98.2	0.822
4	0.506	0.9	99.2	0.579
5	0.390	0.7	99.9	0.530
6	0.057	0.1	100.0	0.233

表 3　标准化的典型判别函数系数

Table 3　Standardized canonical discriminant function coefficients

生态形态学特征 Ecomorphological Characteristics	函数 Function					
	1	2	3	4	5	6
BW'	**0.950**	−0.138	0.619	−0.310	0.014	0.093
BL'	0.085	0.292	0.608	0.186	0.328	**−0.974**
WL'	0.669	**−0.970**	−0.226	0.437	0.450	0.162
TL'	−0.493	0.032	0.468	0.093	**−0.970**	0.599
TML'	0.070	0.499	0.452	0.078	**0.637**	0.522
CL'	0.247	**0.613**	−0.493	0.553	−0.332	−0.163

函数中所有的变量都经过正态分布标准化。

All variables in the canonical discriminant function are standardized based on normal distribution.

部集中在集团 a、b 中，其中角百灵和小云雀的相互误判率分别为 7.7%和 20.8%，黄头鹡鸰和鸲岩鹨的相互误判率分别为 6.8%和 10.9%，鸲岩鹨和粉红胸鹨的相互误判率分别为 3.6%和 9.6%。其他物种的误判率相对较小 (表 4)。

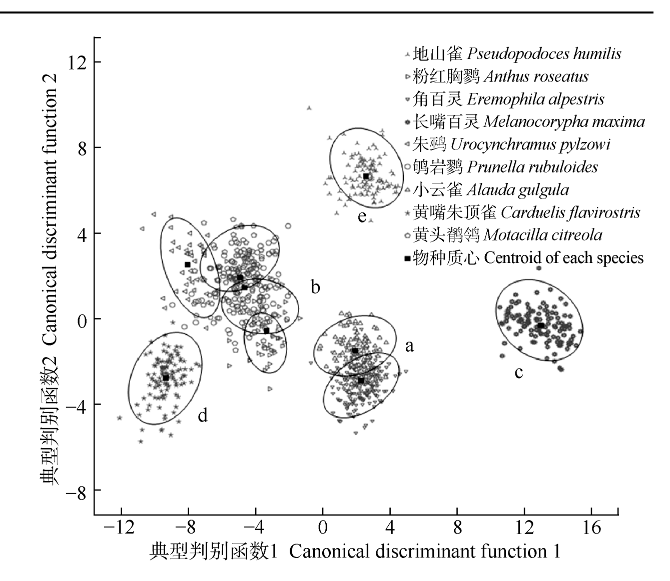


图 1　高寒草甸雀形目鸟类生态形态学特征判别分析分布

Figure 1　Ordination of passerines in alpine meadow along the first two discriminant functions resulting from discriminant analysis of ecomorphological characteristics

图中的椭圆包含了所有观测值的 95%。Ellipses include 95% of all observations.

表 4　高寒草甸雀形目鸟类生态形态学特征判别分析正确率

Table 4　Percentages of species classified by discriminant analysis of the ecomorphological characteristics of passerines in alpine meadow

物种 Species	预测结果 Classified (%)								
	地山雀 *Pseudopodoces humilis*	长嘴百灵 *Melanocorypha maxima*	黄嘴朱顶雀 *Carduelis flavirostris*	角百灵 *Eremophila alpestris*	小云雀 *Alauda gulgula*	朱鹀 *Urocynchramus pylzowi*	黄头鹡鸰 *Motacilla citreola*	鸲岩鹨 *Prunella rubeculoides*	粉红胸鹨 *Anthus roseatus*
地山雀 *Pseudopodoces humilis*	100.0								
长嘴百灵 *Melanocorypha maxima*		100.0							
黄嘴朱顶雀 *Carduelis flavirostris*			100.0						
角百灵 *Eremophila alpestris*				92.3	**7.7**				
小云雀 *Alauda gulgula*				**20.8**	79.2				
朱鹀 *Urocynchramus pylzowi*						94.4	2.8	2.8	
黄头鹡鸰 *Motacilla citreola*						1.7	88.0	**6.8**	3.4
鸲岩鹨 *Prunella rubeculoides*						0.9	**10.9**	84.5	**3.6**
粉红胸鹨 *Anthus roseatus*							3.8	**9.6**	86.5

表中只给出对角线数据及其它部分数据，其余数据对结果影响较小已省略。

Data on diagonal and other parts of the table are shown, but those with little influence on the results have been omitted.

3　讨　论

生态位理论认为栖息地的同质性阻碍了不同物种的共存 (Block et al, 1991)，为了减小种间竞争，同质环境中关系密切的物种一般具有不同的生态形态学特征，以实现对有限资源的分割 (Lu et al, 2011; Zeng & Lu, 2009)，最终达到共存，我们的研究结果也支持这一理论。

本研究区域群落结构简单，垂直分层不明显，所研究的9种雀形目鸟类包括了高寒草甸生态系统中一系列的生态相似物种，其各生态形态学指标均具有显著差异。9 个物种在栖息地的利用上具有一定的重叠，被划分为5个集团，且每个集团均具有其独特的生态形态学特征 (表 5)。

表 5　不同集团雀形目鸟类的生态形态学特征及其生活习性

Table 5　Ecomorphological characteristics and life habits of passerines in different guilds

集团 Guild	包括的物种 Species included	生态形态学特征 Ecomorphological characteristics	与其生态形态学特征相适应的生活习性 Life habits related to ecomorphological characteristics
a	角百灵、小云雀	各指标均处于中间水平	分布生境类型多样化，杂食
b	朱鹀、黄头鹡鸰、鸲岩鹨、粉红胸鹨	尾长相对较大	灌丛草甸筑巢，多分布于金露梅灌丛
c	长嘴百灵	体型最大	沼泽草甸筑巢*
d	黄嘴朱顶雀	体型较小，嘴峰长最小	灌丛筑巢，食草籽
e	地山雀	跗蹠长和嘴峰长较大，尾长较小	跳跃行进，食虫，穴居

* 研究对象中，只有长嘴百灵在沼泽草甸筑巢。

* Only long-billed Calandra lark nested in swampy meadow among birds studied.

a 集团包括角百灵和小云雀两个物种，其各项生态形态学指标差异相对较小，均具有相对较长的翅膀，繁殖时期均在矮嵩草草甸地表筑巢繁殖 (Zhang et al, 2006)。其巢内、外温度日变化差异较小 (Zhao et al, 2002b)，繁殖强度的季节变化基本一致，育雏食物高度重叠 (Zhao & Zhang, 2004)。虽然两者均在矮嵩草草甸筑巢繁殖，且育雏食物高度重叠，但研究表明其巢址微环境、巢开放度及取食方式的差异可能是其共存的机制 (Zhao & Zhang, 2004; Cody, 1968)。虽然两者同在地面筑巢，生态位可能存在较大的重叠，但高寒草甸生态系统能够为其提供充足的资源，因此，它们之间不需要产生生态位的完全分离，也能很好地共存 (Cui & Deng, 2007)。b 集团包括朱鹀、黄头鹡鸰、鸲岩鹨和粉红胸鹨等 4 个物种多分布于金露梅灌丛草甸 (Zhang, 1982)，其相对较长的体长和尾长有利于其在栖木上停留时保持身体的平衡。其它 3 个集团物种的生态形态学特征和栖息地环境也各不相同，长嘴百灵体型最大，在潮湿的藏嵩草沼泽化草甸营巢繁殖 (Zhang et al, 2006)；黄嘴朱顶雀体型最小，在金露梅灌丛上营巢繁殖 (Zhang et al, 2006)，较小的嘴峰与其取食草籽的食性相关 (Zhang, 1982)；体型适中的地山雀在鼠洞内营巢繁殖 (Zhang et al, 2006)，较长的跗蹠长与其跳跃行进行为有关，较长的嘴峰与其食虫的食性相适应 (Zhang, 1982)，而短小的尾羽推测与其穴居习性有关。综上所述，不同集团的鸟类通过各种方式实现共存，而同一集团内，不同物种间存在的错判则说明了相关物种较为激烈的种间竞争，且这些竞争可能作为新的选择压力，为物种进化提供动力。

性状替换(character displacement)假说认为, 为促进资源分割，同域分布时，亲缘关系越相近的物种在生态形态学上的差异越显著。在本研究涉及的 3 种百灵科鸟类中，长嘴百灵与角百灵和小云雀的生态形态学特征具有显著差异 (表 1)，与性状替换理论吻合。

不同物种的生态形态学特征，不仅受栖息地生境特征的影响，也是系统发育长期进化的结果 (Bock, 1994)。如果考虑到物种进化过程中的部分选择压力也来自环境条件和种间竞争，那么，栖息地环境对生态形态学特征的影响便是无可争议的。不同集团间各物种利用的栖息地略有不同，同一集团内不同物种通过不同的策略开发特定的资源，因此，所有物种都具有其特定的生态位。综上所述，高寒草甸雀形目鸟类的生态形态学特征差异阐明了其资源分割的方式，最大程度降低了种间竞争，解释了其共存机制。

参考文献：

Amadon D. 1943. Bird weights as an aid in taxonomy. *The Wilson Bulletin,* **55**(3): 164-177.

Atchley WR, Gaskins CT, Anderson D. 1976. Statistical properties of ratios. I. Empirical results. *Systematic Zoology,* **25**(2): 137-148.

Block WM, Brennan LA, Gutiérrez RJ. 1991. Ecomorphological relationships of a guild of ground-foraging birds in Northern California, USA. *Oecologia,* **87**(3): 449-458.

Bock WJ. 1994. Concepts and methods in ecomorphology. *Journal of Biosciences,* **19**(4): 403-413.

Brown JH, Bowers MA. 1985. Community organization in hummingbirds: relationships between morphology and ecology. *The Auk,* **102**(2): 251-269.

Carrascal LM, Moreno E, Tellería JL. 1990. Ecomorphological relationships in a group of insectivorous birds of temperate forests in winter. *Ecography,* **13**(2): 105-111.

Cody ML. 1968. On the methods of resource division in grassland bird communities. *The American Naturalist,* **102**(924): 107-147.

Cui P, Deng HW. 2007. Review on the status and development of bird community research. *Chinese Journal of Zoology,* **42**(4): 149-158. [崔鹏, 邓文洪. 2007. 鸟类群落研究进展. 动物学杂志, **42**(4): 149-158.]

Diamond J. 1988. Factors controlling species diversity: overview and synthesis. *Annals of the Missouri Botanical Garden,* **75**(1): 117-129.

Eckhardt RC. 1979. The adaptive syndromes of two guilds of insectivorous birds in the colorado rocky mountains. *Ecological Monographs,* **49**(2): 129-149.

Guillemain M, Fritz H, Guillon N, Simon G. 2002. Ecomorphology and coexistence in dabbling ducks: the role of lamellar density and body length in winter. *Oikos,* **98**(3): 547-551.

Hespenheide HA. 1973. Ecological inferences from morphological data. *Annual Review of Ecology and Systematics,* **4**(1): 213-229.

Li MC, Zhao L, Li LX, Zhang XA, Yi XF. 2003. Effect of nestling positions in nests on the parental feeding rates in robin accentor (*Prunella Rubeculoides*). *Chinese Journal of Zoology,* **38**(6): 28-32. [李明才, 赵亮, 李来兴, 张晓爱, 易现峰. 2003. 巢中的位置对鸲岩鹨亲鸟递食率的影响. 动物学杂志, **38**(6): 28-32.]

Li YN, Zhao XQ, Cao GM, Zhao L, Wang QX. 2004. Analyses on climates and vegetation productivity background at Haibei alpine meadow ecosystem research station. *Plateau Meteorology,* **23**(4): 558-567. [李英年, 赵新全, 曹广民, 赵亮, 王勤学. 2004. 海北高寒草甸生态系统定位站气候、植被生产力背景的分析. 高原气象, **23**(4): 558-567.]

Lu X, Gong GH, Ma XY. 2011. Niche segregation between two alpine rosefinches: to coexist in extreme environments. *Evolutionary Biology,* **38**(1): 79-87.

Miles DB, Ricklefs RE. 1984. The correlation between ecology and morphology in deciduous forest passerine birds. *Ecology,* **65**(5): 1629-1640.

Miles DB, Ricklefs RE, Travis J. 1987. Concordance of ecomorphological relationships in three assemblages of passerine birds. *The American Naturalist,* **129**(3): 347-364.

Noon BR. 1981. The distribution of an avian guild along a temperate elevational gradient: the importance and expression of competition. *Ecological Monographs,* **51**(1): 105-124.

Schluter D, Smith JNM. 1986. Natural selection on beak and body size in the song sparrow. *Evolution,* **40**(2): 221-231.

Willson MF. 1974. Avian community organization and habitat structure. *Ecology,* **55**(5): 1017-1029.

Zeffer A, Johansson LC, Marmebro Å. 2003. Functional correlation between habitat use and leg morphology in birds (*Aves*). *Biological Journal of the Linnean Society,* **79**(3): 461-484.

Zeng XH, Lu X. 2009. Interspecific dominance and asymmetric competition with respect to nesting habitats between two snowfinch species in a high-altitude extreme environment. *Ecological Research,* **24**(3): 607-616.

Zhang XA. 1982. On the structure of bird communities in an alpine meadow area. *In*: Xia WP. Alpine Meadow Ecosystem Fasc. 1. Lanzhou: Gansu People's Publishing House, 117-129. [张晓爱. 1982. 高寒草甸繁殖鸟类的群落结构. 见：夏武平. 高寒草甸生态系统 第 1 集. 兰州: 甘肃人民出版社, 117-129.]

Zhang XA, Deng HL. 1986. Seasonal variations of the avian community structure of the alpine meadow at the haibei region. *Acta Zoologica Sinica,* **32**(2): 180-187. [张晓爱, 邓合黎. 1986. 青海省海北地区高寒草甸鸟类群落结构的季节变化. 动物学报, **32**(2): 180-187.]

Zhang XA, Zhao L, Liu ZH. 2000a. Breeding productivity of passerine birds in alpine meadow in Northern Qinghai. *Acta Zoologica Sinica,* **46**(3): 265-270. [张晓爱, 赵亮, 刘泽华. 2000a. 青海省海北地区高寒草甸雀形目鸟类的繁殖生产力. 动物学报, **46**(3): 265-270.]

Zhang XA, Zhao L, Liu ZH. 2000b. The quantitative analyssis of reproductive pattern of passerine birds in alpine meadow // Zheng GM, Yan CW. Studies on Chinese Ornithology-Proceedings of the 4th Ornithological Symposium of Mainland & Taiwan, China. Beijing: China Forestry Publishing House, 248-252. [张晓爱, 赵亮, 刘泽华. 2000b. 高寒草甸雀形目鸟类繁殖方式的定量分析. 见：中国鸟类学会. 中国鸟类学研究——第四届海峡两岸鸟类学术研讨会文集. 北京: 中国林业出版社, 248-252.]

Zhang XA, Zhao L, Liu ZH, Yi XF. 2003. Manipulating brood size experiments of two species passerine birds-testing lack's hypothesis. *Acta Ecologica Sinica,* **23**(4): 657-664. [张晓爱, 赵亮, 刘泽华, 易现峰. 2003. 两种雀形目鸟类的窝雏数处理实验: 检验 Lack 假说. 生态学报, **23**(4): 657-664.]

Zhang XA, Liu ZH, Zhao L, Wang AZ, Lei FM. 2006. Nesting ecology of the passerines in Qinghai-Tibetan plateau. *Zoological Research,* **27**(2): 113-120. [张晓爱, 刘泽华, 赵亮, 王爱真, 雷富民. 2006. 青藏高原常见雀形目鸟类的筑巢特征. 动物学研究, **27**(2): 113-120.]

Zhao L, Zhang XA. 2004. Nest-site selection and competition coexistence of horned larks and small skylarks. *Zoological Research,* **25**(3): 198-204. [赵亮, 张晓爱. 2004. 角百灵和小云雀的巢址选择与竞争共存. 动物学研究, **25**(3): 198-204.]

Zhao L, Zhang XA. 2005. Effects of nest type, nest predation and clutch size on growth period for passerine birds in alpine meadow. *Zoological Research,* **26**(2): 129-135. [赵亮, 张晓爱. 2005. 营巢类型、巢捕食和窝卵数对高寒草甸雀形目雏鸟生长期的影响. 动物学研究, **26**(2): 129-135.]

Zhao L, Li LX, Zhang XA. 2002a. Effects of hatching behavior on offspring quality in two species passerines. *Zoological Research,* **23**(1): 25-30. [赵亮, 李来兴, 张晓爱. 2002a. 两种雀形目鸟类孵化行为对子代质量的影响. 动物学研究, **23**(1): 25-30.]

Zhao L, Zhang XA, Li LX. 2002b. Incubating behavior of the horned lark (*Eremophila alpestris*) and small skylark (*Alauda gulcula*). *Acta Zoologica Sinica,* **48**(5): 695-699. [赵亮, 张晓爱, 李来兴. 2002b. 角百灵和小云雀的孵化行为. 动物学报, **48**(5): 695-699.]

Zhao L, Zhang XA, Li MC. 2002c. Effects on nestling growth by brood manipulation in two passerine birds. *Chinese Journal of Zoology,* **37**(3): 6-8. [赵亮, 张晓爱, 李明才. 2002c. 窝雏数处理对两种雀形目幼鸟生长的影响. 动物学杂志, **37**(3): 6-8.]

Zhao L, Liu ZH, Zhang XA, Yi XF, Li MC. 2003. Feeding nestling in twite *Acanthis flavirostris* at the Haibei alpine meadow, Qinhai. *Zoological Research,* **24**(2): 137-139. [赵亮, 刘泽华, 张晓爱, 易现峰, 李明才. 2003. 青海海北高寒草甸黄嘴朱顶雀亲鸟递食率. 动物学研究, **24**(2): 137-139.]

Zhao XQ. 2009. Alpine Meadow Ecosystem and Global Change. Beijing: Science Press. [赵新全. 2009. 高寒草甸生态系统与全球变化. 北京: 科学出版社.]

Zhou XM. 2001. The Kobresia Meadow of China. Beijing: Science Press. [周兴民. 2001. 中国嵩草草甸. 北京: 科学出版社.]

Zhou XM, Li JH. 1982. The principal vegetation types and their geographical distribution at the Haibei research station of alpine meadow ecosystem, Menyuan County, Qinghai Province. *In*: Xia WP. Apline Meadow Ecosystem Fasc. 1. Lanzhou: Gansu People's Publishing House, 9-18. [周兴民, 李建华. 1982. 海北高寒草甸生态系统定位站的主要植被类型及地理分布规律. 见：夏武平. 高寒草甸生态系统 第 1 集. 兰州: 甘肃人民出版社, 9-18.]

动　物　学　研　究　2013，Jun. 34(3): 166−173　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0166

莫莫格自然保护区白鹤秋季迁徙停歇期觅食生境选择

孔维尧[1]，郑振河[1]，吴景才[1]，宁　宇[2]，王　永[3]，韩晓东[1,*]

1. 吉林省林业科学研究院 湿地野生动物研究所，长春　130033；
2. 北京林业大学 生物科学与技术学院，北京　100083；
3. 莫莫格保护区 自然管理局，镇赉　137316

摘要：2008 年秋季(10 月 8 日—20 日)及 2009 年秋季(9 月 20 日—10 月 16 日)，通过样方法对觅食生境 11 个生态因子进行调查，利用卡方检验、资源选择指数和资源选择函数在莫莫格保护区对秋季迁徙停歇期白鹤觅食生境选择进行研究。结果表明，白鹤对距人为干扰源距离、植被密度、盖度、高度、植物性食物密度以及水深均具有选择性，但对宏观尺度干扰因子的选择性较低。其偏好觅食生境的特点为：距一级路>5000 m，>二级路 1500 m 以上，>三级路 1000 m 以上，>居民点 1000 m 以上，农田>1000 m；植被密度 20~50 株/m^2，盖度<10%，高度<20 cm，扁杆藨草密度 1~50 株/m^2，藨草密度 1~10 株/m^2，水深 40~60 cm。白鹤秋季觅食生境资源选择函数为 Logistic (P)=0.663+0.565×与一级道路距离+0.042×与二级道路距离+0.519×与三级道路距离+0.353×与居民点距离+0.169×与农田距离–0.455×植被密度–0.618×植被盖度–0.548×植被高度–0.158×扁杆藨草密度–0.404×藨草密度+0.920×水深，$T(x) = e^{\mathrm{Logistic}(p)}/[1+e^{\mathrm{Logistic}(p)}]$，模型正确预测率为 82.9%。

关键词：白鹤；觅食生境选择；资源选择指数；资源选择函数
中图分类号：Q959.7+26　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)03-0166-08

Foraging habitat selection of Siberian Crane (*Grus leucogeranus*) during autumn migration period in the Momoge Nature Reserve

Wei-Yao KONG[1], Zhen-He ZHENG[1], Jin-Cai WU[1], Yu NING[2], Yong WANG[3], Xiao-Dong HAN[1,*]

1. *Wetland and Wildlife Institute*, *Jilin Provincial Academy of Forestry Sciences*, *Changchun*　130033, *China*;
2. *College of Biological Sciences and Biotechnology*, *Beijing Forestry University*, *Beijing*　100083, *China*;
3. *Momoge Nature Reserve Bureau*, *Zhenlai*　137316, *China*

Abstract: In autumn of 2008 and 2009, we studied the foraging habitat selection of Siberian Crane (*Grus leucogeranus*) in the Momoge Nature Reserve of Jilin province. Using the resource selection index, resource selection functions, and the chi-squared test, we found that the Siberian Crane exhibited selectivity in their preferred foraging environments in relation to the distance to human disturbances, vegetation density, coverage and height, foraging vegetation density and water level. Interestingly, this selectivity in regards to large scale disturbances was lower than other factors. The characteristics of favorite foraging habits of Siberian Cranes include a variety of factors: a distance >5000 m from a national highway, >1500 m from a non-gravel road, >1000 m from the nearest road, >1000 m from a residential area, >1000 m from farmland; plant density between 20 and 50 grass/m^2; plant coverage lower than 10%; plant height lower than 20 cm; *Scirpus planiclmis* density between 1 and 50 grass/m^2; *Scirpus triqueter* density between 1 and 10 grass/m^2; and the water level between 40 and 60 cm. The resource selection functions of Siberian Crane foraging habitat in autumn can be described thusly: Logistic (P) = 0.663 + 0.565×distance to national highway + 0.042×distance to non-gravel road + 0.519×distance to the nearest road + 0.353×distance to residential area + 0.169×distance to farmland – 0.455×vegetation density – 0.618×vegetation coverage – 0.548×vegetation height – 0.158×*Scirpus planiclmis* density – 0.404×*Scirpus triqueter* density + 0.920×water level，$T(x) = e^{\mathrm{Logistic}(p)} / [1 + e^{\mathrm{Logistic}(p)}]$, with an overall prediction accuracy of 82.9%.

Keywords: Siberian Crane (*Grus leucogeranus*); Foraging habitat selection; Resource selection index; Resource selection functions

收稿日期：2012-11-21；接受日期：2013-02-04
基金项目：“十一五”林业科技支撑项目 (2006BAD03A1901)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: xdhan934@126.com
第一作者简介：孔维尧，男，31 岁，主要从事野生动物生态学研究。E-mail：kongweiyao@163.com

白鹤被 IUCN 物种红皮书列为“极危”，其在中国越冬的东部种群数量占全球种群数量的~99%，对于物种安全具有至关重要的意义。东部种群春季由越冬地经松嫩平原的向海、莫莫格及扎龙等地迁徙至西伯利亚东北部繁殖，秋季携幼鸟途径上述区域返回鄱阳湖越冬(He et al，2002)。莫莫格是白鹤重要迁徙停歇地，自 2004 年以来白鹤停歇数量始终维持在>2000 只。

动物对生境的适应和选择一直是动物生态学研究的热点 (Wei et al，1998)。生境选择既是行为生态学研究的重要内容, 也是野生动物，特别是濒危物种保护和管理必须研究的重要内容 (Han et al，2004)。生境选择研究方法一般可以分为两大类，即比较被利用—未利用生境以及比较被利用—可获得生境 (Bryan et al，1993；Jones，2001；Li et al，2008a,b)。被利用生境是指被动物所占据或使用的生境，未被利用生境是指未被动物所占据或使用的生境，可利用生境是指能够为动物所到达并予以利用的生境，包括被利用的生境。基于资源可获得性的生境选择研究可以更好地反映物种对生境的利用 (Aebiseher et al，1993；Hails et al，1996；Yang et al，2006；Li et al，2008b)，目前基于生境可获得性的方法对白鹤生境选择的研究以及对不同生境因子在白鹤觅食地选择过程中重要性的评估尚未见报道。资源选择函数由于可以将生境利用表现为若干因子的多元回归模型 (Boyce & McDonald，1999；Boyce et al，2002)，在近年的研究中得到越来越多的应用。多元回归模型对于样本量和样本独立性都有很高的要求 (Zhang & Yan，2004)，研究中常见的处理方法是对生境因子进行相关性分析后筛选 (Li et al，2008b；Liu et al，2009)，而因子取舍的合理性在很大程度上依赖研究者的判断。

本研究采用资源选择指数研究了秋季迁徙停歇在莫莫格自然保护区的白鹤对觅食生境的偏好，并结合主成分分析，建立资源选择函数，确定影响白鹤觅食生境选择的主要因子，以期为这一濒危物种的保护和管理提供科学依据。

1　材料和方法

1.1　研究区域

研究区域位于莫莫格保护区鹅头泡(E123°38′~ 123°47′，N45°53′~45°57′)，面积~60 km^2。该区域原为芦苇沼泽，自 1998 年后水位持续下降，植被类型也发生了旱生化演替。2004 年后，保护区附近水田面积增加，每年秋季都有稻田退水通过前杭乃排灌站排入鹅头泡附近，植被也出现湿生化演替，形成以藨草 (*Scirpus triqueter*)、水稗 (*Echinochloa phyllopogon*)以及扁杆藨草 (*Scirpus planiclmis*)为建群种的植被群落，其他伴生种还包括狭叶香蒲 (*Typha angustifolia*)、水葱 (*Schoenoplectus tabernaemontani*)、芦苇 (*Phragmites communis*)、小叶樟 (*Deyeuxia angustifolia*)、碱蓬 (*Suaeda glauca*)及酸模叶蓼 (*Polygonum thunbergii*)等。

莫莫格保护区是白鹤重要停歇地 (Kanai et al，2002)。自 2006 年起，保护区迁徙停歇白鹤的数量猛增，2008 年记录到世界上最大的白鹤种群，数量>2700 只，占全球种群～2/3，特别是 2008 年后，白鹤停歇点由三门王家、后各力吐、古鲁台及白音套海等多个 (He et al，2002)变为一个，均位于研究区内。2008 年白鹤最早于 9 月 3 日迁徙至研究地，最晚于 11 月 7 日迁离，迁徙停歇期全长 55 d；2009 年 9 月 30 日首见，11 月 3 日迁离，停歇期 35 d。

1.2　研究方法

1.2.1　样方设置

使用 30~60× 单筒望远镜观察白鹤行为，一人固定视野，另一人通过对讲机步行至白鹤取食地点，在觅食地设置 1 m×1 m 样方，共设置取食地样方 90 个，样方间距>20 m。采用系统抽样法，每隔 1 km 设置一条样线，每条样线上间隔 100 m 设置一个 1 m×1 m 样方作为整体样方，样线覆盖整个研究区。通过观察，白鹤在无地表水及水深>60 cm 的区域无采食行为，因此，取样范围设置在水深 1~60 cm 的生境中，共取得整体样方 94 个，其中 28 个为觅食样方。

1.2.2　生态因子的测量

记录每个样方中的植被密度、高度、盖度及水深等参数。观察发现扁杆藨草与藨草为白鹤所取食，因此，这两种植物的密度也作为生态因子而被测量。选取 2008 年 9 月资源 2 号卫星拍摄的卫片(精度 5 m)，在 Mapinfo 7.0 界面进行矢量化，与研究区道路工程图叠加，测量样方与人为干扰源的距离。各种生态因子的定义和测量方法如下：与一级道路距离 (*X*1)为样方与最近的县级以上道路的直线距离；与二级道路距离 (*X*2)为样方与最近的非砂石道路的直线距离，在研究区域内，二级道路均为

村村通；与三级道路距离 ($X3$)为样方与最近道路的直线距离，在本研究中大部分为供农用车、行人及牲畜等行走的砂石道路；与居民点距离($X4$)为样方与最近居民点间的直线距离；与农田距离($X5$)为样方与最近农田间的直线距离；植被密度($X6$)为样方内所有植株的总数量(株/m^2)；植被盖度($X7$)为样方内所有植株的总盖度，以百分数表示；植被高度($X8$)为样方内最高植株的高度(cm)；

扁杆藨草密度($X9$)为样方内扁杆藨草的数量(株/m^2)；藨草密度($X10$)为样方内藨草的数量(株/m^2)；水深($X11$)为样方中心点水深(cm)。

1.2.3 数据处理

利用 Person 卡方检验分析动物对资源的利用是否存在选择性 (Shen et al, 2009)，并使用 Vanderploeg 和 Scavia 资源选择指数计算物种对生境的偏好 (Vanderploeg & Scavia, 1979)，计算公式为:

$$Ei = (Wi - 1/n)/(Wi + 1/n)$$

$$Wi = \Phi i / \sum_{i=1}^{n} \Phi i$$

$$\Phi i = Pi / Ai$$

其中 Pi 为物种利用资源 i 概率，Ai 为资源 i 占整体资源的比率，n 为资源 i 划分的等级数量。Ei 介于 −1~1，取值为正数时表示对该种资源为正选择，为负数时表示负选择，取值越大表明物种对该资源的喜好程度越高，反之亦然，取值为 0 时表示中性选择。

对生态因子进行标准化以消除不同统计量纲间的差异 (Li et al，2001)，对标准化后的生态因子进行主成分分析，计算每个生态因子的因子负荷与因子得分，并根据因子得分计算压缩后各主成分的 Z 值，计算方法为：

$$Zm = \sum_{r=1}^{N} Xr * \theta mr$$

其中 Zm 为压缩后第 m 个主成分的值，N 为生态因子的个数，Xr 为第 r 个生态因子标准化后的值，θmr 为第 r 个生态因子在第 m 个主成分中的因子得分。使用 Binary Logistic 回归中的向前法 (forward method)，以压缩后的因子为变量，建立白鹤觅食生境资源选择函数模型，采用条件检验(conditional)剔除未能进入方程的变量。模型建立后，将压缩后变量的选择系数还原为原始变量的选择系数，计算方法为：

$$Bxr = \sum_{m=1}^{N'} Bzm * \theta mr$$

其中 Bxr 为变量还原后第 r 个生态因子在回归方程中的选择系数，Bzm 为压缩后第 m 个主成分的选择系数，N'为进入回归方程的压缩变量的数量。

数据标准化、卡方检验、因子分析以及 Logistic 回归等均使用 SPSS 11.0 进行运算。

2 结 果

2.1 秋季迁徙停歇期白鹤觅食生境的选择

白鹤对于秋季觅食生境 11 个生态因子均具选择性(表 1)，除距离一级道路(P=0.030)、二级道路距离(P=0.035)外，卡方检验结果均极为显著。秋季白鹤偏好生境特征为：与一级路、二级路、三级路、居民点及农田的距离分别>5000、1500、1000、1000 及 1000 m；植被密度 20~50 株/m^2，盖度<10%，高度<20 cm，扁杆藨草密度 1~50 株/m^2，藨草密度 1~10 株/m^2；水深 40~60 cm。

2.2 生态因子主成分分析。

对样方中生态因子标准化并进行主成分分析，前 6 个因子累计贡献率达到 87.4%。11 个生态因子的因子负荷及因子得分见表 2。第一主成分贡献率为 32.8%，其中负荷较大的因子反映农业生产生活及植被特征信息，包括与居民点及农田间的距离(−0.718、−0.611)、植被密度 (0.812)、盖度 (0.863)、高度(0.687)以及藨草密度(0.555)等；第二主成分贡献率为 16.0%，其中负荷较大的因子反映立地尺度人为干扰以及植被密度信息，包括与三级路及农田间的距离 (0.686、0.603)、植被密度 (0.433)以及藨草密度 (0.432)等；第三主成分贡献率为 15.5%，负荷较大的因子包括与一级路间的距离(0.619)、扁杆藨草密度(0.421)及水深(0.418)；第四主成分贡献率为 9.4%，负荷较大的因子为与一级道路及三级道路间的距离 (0.372、0.362)、植被高度 (0.431)以及扁杆藨草密度 (−0.644)等；第五主成分贡献率为 9.0%，负荷较大的因子为藨草密度 (−0.523)及水深(−0.618)；第六主成分贡献率为 4.6%，负荷较大的因子包括与一级以及二级道路间的距离(−0.275、0.377)、植被高度 (0.268)及水深 (−0.286)。

2.3 白鹤秋季觅食生境资源选择函数

物种对生境的选择是多种生态因子共同作用的结果，所以资源选择函数一般表现为一个包括多个独立生境变量的线性对数模型: ω(x)=exp (β0+

表 1 白鹤对觅食生境生态因子的选择

Table 1 Selection of foraging habitat factors by Siberian Crane

	i 类型 Types	*Pi* 使用概率 Used proportion	*Ai* 期望概率 Expected proportion	*Φi* *Pi* / *Ai*	*Wi* 资源选择系数 Selection coefficient	*Ei* 资源选择指数 Selection index
*X*1 Distance to national highway （m）	<3000	0.478	0.415	1.152	0.250	0.000
	3000~4000	0.144	0.255	0.566	0.123	−0.341
	4000~5000	0.278	0.277	1.004	0.218	−0.068
	≥5000	0.100	0.053	1.880	0.409	0.241
			K^2=8.920 df=3 Sig=0.030			
*X*2 Distance to non-gravel road（m）	<1000	0.278	0.277	1.004	0.217	−0.070
	1000~1500	0.267	0.383	0.696	0.151	−0.248
	1500~2000	0.167	0.096	1.741	0.377	0.202
	≥2000	0.289	0.245	1.181	0.255	0.011
			K^2=8.578 df=3 Sig=0.035			
*X*3 Distance to the nearest road（m）	<400	0.111	0.234	0.475	0.073	−0.466
	400~600	0.289	0.213	1.358	0.208	0.020
	600~800	0.344	0.319	1.079	0.165	−0.095
	800~1000	0.167	0.202	0.825	0.126	−0.225
	≥1000	0.089	0.032	2.786	0.427	0.362
			K^2=18.083 df=4 Sig=0.001			
*X*4 Distance to residential area （m）	<600	0.044	0.202	0.220	0.035	−0.704
	600~800	0.178	0.309	0.576	0.091	−0.375
	800~1000	0.100	0.223	0.448	0.071	−0.478
	1000~1200	0.189	0.074	2.537	0.401	0.334
	≥1200	0.489	0.191	2.553	0.403	0.337
			K^2=79.968 df=4 Sig=0.000			
*X*5 Distance to farmland （m）	<400	0.1667	0.223	0.746	0.113	−0.278
	400~600	0.2000	0.330	0.606	0.092	−0.370
	600~800	0.2000	0.213	0.940	0.142	−0.168
	800~1000	0.1556	0.149	1.044	0.158	−0.117
	≥1000	0.2778	0.085	3.264	0.494	0.424
			K^2=46.204 df=4 Sig=0.000			
*X*6 Vegetation density (grass/m^2)	< 20	0.3889	0.319	1.219	0.273	0.044
	20~50	0.4222	0.170	2.480	0.555	0.379
	50~100	0.1000	0.213	0.470	0.105	−0.408
	100~150	0.0889	0.298	0.298	0.067	−0.578
			K^2=53.659 df=3 Sig=0.000			
*X*7 Vegetation coverage （ %）	<10	0.467	0.191	2.437	0.509	0.436
	10~30	0.200	0.191	1.044	0.218	0.043
	30~60	0.256	0.298	0.858	0.179	−0.055
	60~80	0.067	0.181	0.369	0.077	−0.444
	≥80	0.011	0.138	0.080	0.017	−0.845
			K^2=53.337 df=4 Sig=0.000			
*X*8 Vegetation Height （cm）	<20	0.611	0.287	2.128	0.608	0.417
	20~40	0.289	0.340	0.849	0.243	−0.015
	40~60	0.067	0.213	0.313	0.090	−0.472
	≥60	0.033	0.160	0.209	0.060	−0.615
			K^2=51.706 df=3 Sig=0.000			
X9 Density of *Scirpus planiclmis* (grass/m^2)	0	0.300	0.426	0.705	0.182	−0.158
	1~20	0.422	0.266	1.587	0.409	0.241
	20~50	0.256	0.181	1.413	0.364	0.186
	≥50	0.022	0.128	0.174	0.045	−0.696
			K^2=30.267 df=3 Sig=0.000			
*X*10 Density of *Scirpus triqueter* (grass/m^2)	0	0.578	0.660	0.876	0.149	−0.148
	1~10	0.256	0.085	3.003	0.509	0.436
	10~20	0.111	0.085	1.305	0.221	0.051
	20~40	0.044	0.074	0.596	0.101	−0.328
	≥40	0.011	0.096	0.116	0.020	−0.821
			K^2=40.262 df=4 Sig=0.000			
*X*11 Water level （cm）	<10	0.011	0.106	0.104	0.018	−0.831
	10~20	0.078	0.234	0.332	0.059	−0.545
	20~30	0.167	0.213	0.783	0.139	−0.180
	30~40	0.300	0.319	0.940	0.167	−0.091
	≥40	0.444	0.128	3.481	0.617	0.510
			K^2=88.220 df=4 Sig=0.000			

表 2 样方生态因子主成分分析

Table 2 Principal component analysis of ecology factors

	1		2		3		4		5		6	
	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score	因子负荷 Factor loading	因子得分 Factor score
*X*1 Distance to national highway（m）	0.387	0.107	−0.213	−0.121	0.619	0.362	0.372	0.358	0.347	0.349	−0.275	−0.540
*X*2 Distance to non-gravel road（m）	−0.080	−0.022	−0.073	−0.042	0.890	0.521	−0.068	−0.066	0.051	0.052	0.377	0.741
*X*3 Distance to the nearest road （m）	−0.332	−0.092	0.686	0.390	0.069	−0.040	0.362	0.349	0.420	0.422	−0.138	−0.271
*X*4 Distance to residential area（m）	−0.718	−0.199	0.470	0.267	0.302	0.177	0.077	0.074	0.072	0.072	0.260	0.511
*X*5 Distance to farmland（m）	−0.611	−0.169	0.603	0.343	−0.208	−0.122	−0.206	−0.199	0.059	0.060	−0.011	−0.021
*X*6 Plant density (grass/m^2)	0.812	0.225	0.433	0.246	0.081	0.048	−0.054	−0.052	0.077	0.077	−0.031	−0.061
*X*7 Plant coverage （%）	0.863	0.239	0.289	0.164	−0.084	−0.049	0.017	0.017	0.132	0.133	0.054	0.106
*X*8 Plant Height（cm）	0.687	0.190	0.185	0.105	−0.166	−0.097	0.431	0.416	−0.060	−0.061	0.268	0.527
*X*9 Density of Scirpus planiclmis (grass/m^2)	0.370	0.102	0.335	0.190	0.421	0.246	−0.644	−0.621	0.068	0.069	−0.207	−0.406
*X*10 Density of Scirpus triqueter (grass/m^2)	0.555	0.154	0.432	0.245	0.032	0.019	−0.013	−0.012	−0.523	−0.526	0.067	0.132
*X*11 Water level（cm）	−0.367	−0.102	0.222	0.126	0.418	0.245	0.332	0.320	−0.618	−0.621	−0.286	−0.562

β1*x*1+β2*x*2+…+βk*x*k)。其中 *x* 代表不同的独立生境变量，β 表示选择系数。物种对觅食生境的选择表现为 0，1 的二元变量，觅食生境取值为 1，非觅食生境取值为 0，因此，采用 Logistic 回归模型 $T(x)=\omega(x)/[1+\omega(x)]$ 建立白鹤秋季觅食生境资源选择函数。根据主成分分析因子得分，将原始因子压缩为 6 个主成分，z1～z6。使用向前法进行二元 Logistic 回归，并采用条件检验剔除未能进入方程的变量。进入方程的变量依次为 z1、z3、z6 及 z4，而 z2、z5 未能进入方程。计算最终结果见表 3。

表 3 白鹤觅食生境选择函数中压缩后生态因子选择系数

Table 3 Selection coefficients in foraging habitat selection function of White cranes after data reduction

主成分 Component	B Coefficient	Wald 检验值 Wald Chi-square	显著性 Sig
z1	−2.213	36.322	0.000
z3	0.834	7.942	0.005
z4	0.577	4.699	0.030
z6	−0.544	4.896	0.027
常数 Constant	0.663	6.846	0.009

白鹤觅食生境选择模型为：$\text{Logistic}(P) = 0.663-2.213z_1+0.834z_3+0.577z_4-0.544z_6$，$T(x)=e^{\text{Logistic}(p)}/[1+e^{\text{Logistic}(p)}]$，*P* 为白鹤选择该生境进行觅食的概率，模型整体正确预测率为 82.9%，其中觅食样方正确预测率为 85.6%，非觅食样方正确预测率为 79%。根据各变量的因子负荷将压缩后的变量还原，如 *x*1 还原方法为：−2.213×0.107+0.834×0.362+0.577×0.358+(−0.544)×(−0.54)=0.565。变量还原后各生态因子在方程中的回归系数见表 4。按照原始变量建立的白鹤觅食生境选择模型为 $\text{Logistic}(P)=0.663+0.565X1+0.042X2+0.519X3+0.353X4+0.169X5-0.455X6-0.618X7-0.548X8-0.158X9-0.404X10+0.920X11$，$T(x)=e^{\text{Logistic}(p)}/[1+e^{\text{Logistic}(p)}]$。

表 4 还原后 11 个生态因子的选择系数

Table 4 Selection coefficients of the 11 original factors

因子 Original Factor	还原后的选择系数 Selection coeffcients in the function after data reversion
*X*1 Distance to national highway (m)	0.565
*X*2 Distance to non-gravel road (m)	0.042
*X*3 Distance to the nearest road (m)	0.519
*X*4 Distance to residential area (m)	0.353
*X*5 Distance to farmland (m)	0.169
*X*6 Plant density (grass/m^2)	−0.455
*X*7 Plant coverage (%)	−0.618
*X*8 Plant Height (cm)	−0.548
*X*9 Density of *Scirpus planiclmis* (grass/m^2)	−0.158
*X*10 Density of *Scirpus triqueter* (grass/m^2)	−0.404
*X*11 Water level (cm)	0.920

3 讨　论

资源选择系数可就动物对同一生态因子不同等级的选择性进行比较和排序，以确定动物对栖息地因素类别选择的先后顺序，并更好地描述物种使用栖息地资源的偏好，尤其适于多资源的栖息地选择研究 (Han et al，2004)，但由于该方法将所有生态因子同等看待，因而不能反映各因子的主次作用 (Yang，2006)。本研究在 Vanderploeg 和 Scavia 资源选择指数的基础上进行卡方检验，以分析白鹤对觅食生境不同生态因子选择的强度。

结果表明，虽然白鹤对各种人类干扰源均表现回避，但对立地尺度干扰源 (距离三级道路距离：K^2=18.083，*df*=4，Sig=0.001；距居民点距离：K^2=79.968，*df*=4，Sig=0.000；距农田距离：K^2=46.204，*df*=4，Sig=0.000)的选择强度明显高于宏观尺度干扰源 (距一级路距离：K^2=8.920，*df*=3，Sig=0.030；距二级路距离：K^2=8.578，*df*=3，Sig=0.035)。一级道路及二级道路产生的干扰强度强于三级道路，但受尺度影响，白鹤对距三级道路距离反而表现更强的选择性。

白鹤对于食物因子 (扁杆藨草密度：K^2=30.267，*df*=3，Sig=0.000；藨草密度：K^2=40.262，*df*=4，Sig=0.000)虽然表现较强选择性，但选择强度不及水深 (K^2=88.220，*df*=4，Sig=0.000)和距居民点距离(K^2=79.968，*df*=4，Sig=0.000)，符合资源−防护原则 (asset-protection principle)(Clark，1994；Olsson et al，2002)，即当食物由于高丰富度而产生较小的价值时，采食者的注意力将从取食转向减少风险。在进行觅食行为观察时发现，白鹤主要取食藨草及扁杆藨草的球茎，藨草根部的球茎比扁杆藨草更柔软，淀粉含量也更高，但并非所有的藨草均长有球茎，在调查过程中出现的频率很低，远不能满足迁徙期大量白鹤取食的需要。据此可以推断，白鹤在迁徙季节主要以扁杆藨草的球茎作为食物。在研究区内，扁杆藨草丰富度较高，白鹤的注意力转向远离人为干扰、水深较深且人与牲畜难以进入的环境。白鹤对植被密度的选择强度(K^2=53.659，*df*=3，Sig=0.000)也高于食物因子。根据资源选择指数，白鹤偏好植被密度较小且扁杆藨草密度偏低的生境。因为白鹤主要以掘食方式进食，过高的植被密度会增加能量消耗，根据最优采食理论 (Pulliam，1976)，选择植被密度较低的生境虽然降低了食物丰富度，但节省了采食时的能量消耗，可以使单位时间内的能量收入最大化。

根据资源选择指数，白鹤偏好水深较深 (40~60 cm)的生境，这与 Jiang et al (2007)在图牧吉的研究结果类似，但与以往研究相比水位更深 (He et al，2002；Jiang et al，2007；Wang et al，2009)。水文对于湿地鸟类的影响可以是直接或间接的 (Osiejuk et al,1999)。例如，水位会对湿地空间结构、植被类型、食物的可得性以及栖息地的微生境产生影响 (Sanders，1999)。白鹤偏好水深较深的环境主要有三方面原因：人与家畜难以进入较深的水深区域，干扰强度小；深水区土壤浸泡得更松软，白鹤在取食植物根茎时能量消耗更小；深水区域有利于形成植物密度较低的环境，而这样的环境同样也是白鹤偏好的。另外，研究发现集群白鹤觅食地的水深较家庭群及零散个体觅食地更深，这与 He et al (2002)的研究结果相同。2008—2009 年，莫莫格秋季白鹤集群数量远多于以往研究中的数量，选择水深更深的生境也是集群白鹤回避采食风险的一种策略。实际上，扁杆藨草生长期的最佳水深为 20~30 cm，当水深>30 cm 时，其密度开始降低；在水深>40 cm 的区域，则完全消失。由于稻田泄水时间是 9 月末，植物生长已经结束，受泄水影响，形成白鹤偏好植被特点的生境水深增加。

由于动物对生境的选择通常受食物、隐蔽性和水源条件等多种因素的制约，因此，资源选择函数通常表现为一个包括多个独立生境变量的线性对数模型 (Han et al，2004)。多元回归模型对于样本量和样本独立性都有很高的要求 (Zhang & Yan，2004)，研究中常见的处理方法是对生境因子进行相关性分析，对相关性较大的因子进行筛选以消除共线性 (Han et al，2004；Li et al，2008；Liu et al，2009)。在进行因子筛选时，不仅要考虑统计学意义，还要兼顾生物学意义 (McGrath et al，2003；Jia et al，2005)，这就对研究者的经验和判断能力提出了一定的要求，特别是当有显著生态学意义的因子相关性较高时 (Li et al，2001)，因子的取舍变得更加困难。应用主成分分析不仅可以压缩变量，提高回归模型的准确度 (Zhang & Yan，2004)，并且回避了因子筛选问题。从选择系数来看，对白鹤觅食生境选择影响较大的因子包括水深 (0.920)、与一级及三级道路间距离 (0.565，0.519)、植被密度(−0.455)、盖度(−0.618)、高度(−0.548)以及藨草密度(−0.404)等。根据卡方检验结果，除与一级道路及三级道路

距离外，白鹤对于以上因子的选择强度也是 11 个因子中较强的。虽然白鹤对与居民点(K^2=79.968，*df*=4)及农田距离的选择强度(K^2=46.204，*df*=4)高于与道路间的距离，但对前两个因子的选择只是偏好其中某一等级的资源 (如距农田 >1 000 m)，对于其他等级资源的选择并未呈现明显的相关关系。由于同样原因，白鹤对于扁杆藨草密度的选择强度也较大 (K^2=30.267，*df*=3)，但这种选择仅限于中低密度范围，因此，扁杆藨草密度在回归方程中的选择系数并不高(−0.227)。与一级及二级道路间距离的回归系数较高可能是两个因子与水深间的相关性所致。由于一般修建道路的地势较高，离道路越远，水深往往越深，这两个因子较高的回归系数并不能说明与道路间距离是影响白鹤觅食生境选择的主要因素。

在回归方程中，与道路、农田和居民点间的距离以及水深与白鹤觅食生境选择概率正相关，而植被密度、高度、盖度以及植物性食物的密度与选择概率负相关，这表明白鹤偏好距离干扰源较远、水深较深、植被密度较低且食物丰富度适中的觅食生境，这一结果与资源选择系数得到的结论一致。

致谢：感谢莫莫格保护区管理局对野外工作的大力支持，感谢吉林省测绘研究院孙永君先生在地理信息系统使用及空间数据处理过程中提供的无私协助。

参考文献：

Aebiseher NJ, Robertson PA, Kenward RE. 1993. Compositional analysis of habitat use from animal radio-tracking data. *Ecology*, **74**(5): 1313-1325.

Boyce MS, McDonald LL. 1999. Relating populations to habitats using resource selection functions. *Trends in Ecology and Evolution*, **14**(7): 268-272.

Boyce MS, Vernier PR, Nielsen SE, Schmiegelow FK. 2002. Evaluation resource selection functions. *Ecological Modeling*, **157**(2-3): 281-300.

Bryan FJM, McDonald L, Thomas DL. 1993. Resource Selection by Animals Statistical Design and Analysis for Field Studies. London: Chapman and Hall Press.

Clark CW. 1994. Antipredator behavior and the asset-protection principle. *Behavioral Ecology*, **5**(2): 159-170.

Hails Y, Nicholls AO, Hanski IK, Raivio S, Haila SR. 1996. Stochasticity in bird habitat selection: year- to-year changes in territory in a boreal forest birds assemblage. *Oikos*, **76**(3): 536-552.

Han ZX, Wei FW, Zhang ZJ, Li M, Zhang BW, Hu JC. 2004. Habitat selection by red pandas in Fengtongzhai Natural Reserve. *Acta Theriologica Sinica*, **24**(3): 185-192. [韩宗先, 魏辅文, 张泽钧, 李明, 张保卫, 胡锦矗. 2004. 蜂桶寨自然保护区小熊猫对生境的选择. 兽类学报, **24**(3): 185-192.]

He CG, Song YJ, Lang HQ, Li HK, Sun XW. 2002. Migratory dynamics of Siberian crane and environmental conditions at its stop-over site. *Biodiversity Science*, **10**(3): 286-290. [何春光, 宋榆钧, 郎惠卿, 李鸿凯, 孙孝维. 2002. 白鹤迁徙动态及其停歇地环境条件研究. 生物多样性, **10**(3): 286-290.]

Jia F, Wang H, Zheng GM. 2005. Habitat selection and spatial distribution of white eared-pheasant (*Crossoptilon crossoptilon*) during early breeding period. *Acta Zoologica Sinica*, **51**(3): 383-392. [贾非, 王楠, 郑光美. 2005. 白马鸡繁殖早期栖息地选择和空间分布. 动物学报, **51**(3): 383-392.]

Jiang WJ, Li MS, Du Y. 2007. Foraging habitat of *Grus leucogeranus* in spring in Tumuji Natural Reserve, Inner Mongolia. *Jilin Forestry Science and Technology*, **36**(3): 28-31, 35. [姜维军, 李梦莎, 杜宇. 2007. 内蒙古图牧吉春季白鹤觅食地生境初步研究. 吉林林业科技, **36**(3): 28-31, 35.]

Jones J. 2001. Habitat selection studies in avian ecology: A critical review. *Auk*, **118**(2): 557-562.

Kanai Y, Ueta M, Germogenov N, Nagendran M, Mita N, Higuchi H. 2002. Migration routes and important resting areas of Siberian cranes (*Grus leucogeranus*) between northeastern Siberia and China as revealed by satellite tracking. *Biological Conservation*, **106**(3): 339-346.

Li HQ, Lian ZM, Chen CG. 2008a. Using resource selection functions to study the roost-site selection by brown-eared pheasant in winter. *Sichuan Journal of Zoology*, **27**(6): 1082-1085. [李宏群, 廉振民, 陈存根. 2008a. 应用资源选择函数对褐马鸡冬季夜栖地选择的研究. 四川动物, **27**(6): 1082-1085.]

Li XH, Ma ZJ, Li DM, Ding CQ, Zhai TB, Lu BZ. 2001. Using resource selection functions to study nest site selection of Crested Ibis. *Biodiversity Science*, **9**(4): 352-358. [李欣海, 马志军, 李典谟, 丁长青, 翟天庆, 路宝忠. 2001. 应用资源选择函数研究朱鹮的巢址选择. 生物多样性, **9**(4): 352-358.]

Li YK, Zhang MH, Jiang ZG. 2008b. Habitat selection by wapiti (*Cervus elaphus xanthopygus*) in the Wandashan Mountains based on habitat availability. *Acta Ecologica Sinica*, **28**(10): 4619-4628. [李言阔, 张明海, 蒋志刚. 2008b. 基于生境可获得性的完达山地区马鹿 (*Cervus elaphus xanthopygus*) 冬季生境选择. 生态学报, **28**(10): 4619-4628.]

Liu ZS, Zhang MM, Li ZG, Ding CQ, Zhai TB, Lu BZ. 2009. Feeding and bedding habitat selection by red deer (*Cervus elaphus alxaicus*) during winter in the Helan Mountains, China. *Theriologica Sinica*, **29**(2): 133-141. [刘振生, 张明明, 李志刚, 胡天华, 翟昊. 2009. 贺兰山马鹿冬季取食和卧息生境选择. 兽类学报, **29**(2): 133-141.]

McGrath MT, DeStefand S, Riggs RA. 2003. Spatially explicit influences on northern goshawk nesting habitat in the interior Pacific Northwest. *Wildlife Monographs*, (154): 1-63.

Olsson O, Brown JS, Smith HG. 2002. Long and short-term state-dependent foraging under predation risk: all indication of habitat quality. *Animal Behaviour*, **63**(5): 981-989.

Osiejuk TS, Kuczynski L, Jermaczek A, Tryjanowski P. 1999. The effect of

water conditions on breeding communities of pastures, meadows and shrub habitats in the Slonsk reserve, NW Poland. *Biologia*, **54**(2): 207-214.

Pulliam HR. 1976. The principal of optimal behavior and theory of communities. *In*: Klopfer PH, Bateson PG. Perspective in Ecology. New York: Plenun Press, 311-332.

Sanders MD. 1999. Effect of changes in water level on numbers of black stilts (*Himantopus novaezelandiae*) using deltas of Lake Benmore. *New Zealand Journal of Zoology*, **26**(2): 155-163.

Shen DJ, Zheng HX, Wang Y, Ge L, Zheng GW, Huang YC, Li KJ, Tang L. 2009. Winter habitats of dwarf blue sheep (*Pseudois schaeferi*) and goral (*Naemorhedus goral*) in Batang County, Sichuan, China. *Acta Ecologica Sinica*, **29**(5): 2320-2330. [申定健, 郑合勋, 王淯, 格来, 曾国伟, 黄艺川, 李开俊, 唐伦. 2009. 四川省巴塘县矮岩羊与斑羚冬季生境比较. 生态学报, **29**(5): 2320-2330.]

Vanderploeg HA, Scavia D. 1979. Calculation and use of selectivity coefficients of feeding: zooplankton grazing. *Ecological Modeling*, **7**(2): 135-149.

Wang L, Zou HF, Li XM, Wu QM. 2009. Foraging habitat of Siberian Crane (*Grus leucogeranus*) in autumn in Tumuji nature reserve in Inner Mongolia. *Chinese Journal of Wildlife*, **30**(1): 20-22. [王磊, 邹红菲, 李晓民, 吴庆明. 2009. 图牧吉自然保护区白鹤秋季觅食地生境初步研究. 野生动物, **30**(1): 20-22.]

Wei FW, Feng ZJ, Wang ZW. 1998. Review of the research of habitat selection in wildlife. *Chinese Journal of Zoology*, **33**(4): 48-52. [魏辅文, 冯祚建, 王祖望. 1998. 野生动物对生境选择的研究概况. 动物学杂志, **33**(4): 48-52.]

Yang CH, Zhang HM, Zhou XP, Wang YP, Wang XM. 2006. Review of habitat selection in the Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*) . *Acta Ecologica Sinica*, **26**(10): 3442-3453. [杨春花, 张和民, 周小平, 王鹏彦, 王小明. 2006. 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 生境选择研究进展. 生态学报, **26**(10): 3442-3453.]

Zhang WT, Yan J. 2004. Basic Statistical Analysis Tutorial for SPSS. Beijing: Higher Education Press. [张文彤, 阎洁. 2004. SPSS 统计分析基础教程. 北京: 高等教育出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 174−181　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0174

冬季森林鸟类对林窗的响应分析

赵东东, 吴映环, 陆　舟, 蒋光伟, 周　放*

广西大学 动物科学技术学院, 广西 南宁　530005

摘要：林窗主要指由森林中老龄树死亡或其他偶然因素导致的成熟阶段优势树种死亡，从而造成在林冠层形成空隙的现象。2011 年 11 月—2012 年 2 月，于广西防城金花茶国家级自然保护区，采用定点观察法，就北热带季雨林冬季鸟类对林窗的响应特征及鸟类在林窗和非林窗的分布特征等进行了研究。在林窗记录到鸟类 45 种，占所有鸟类的 84.9%，平均种数为 9.6 种；在非林窗记录到鸟类 39 种，占所有鸟类的 73.6%，平均种数为 5.3 种。多元回归表明林窗面积、林窗外 10 m 乔木平均高度、林窗外 10 m 乔木数量、林窗外 10 m 灌木数量、林窗外 1 m 草本平均盖度和裸地比例是林窗影响鸟类多样性的关键因子。总体上，林窗鸟类多样性大于非林窗。另外，林窗对鸟类空间分布影响主要表现在：鸟类的垂直分布以林窗中层和林冠层为主，水平分布以近离和较近离为主，而这种空间分布格局主要是由鸟类取食生态位分化所造成。

关键词：林窗；鸟类多样性；空间分布；食性分布；森林

中图分类号：Q958.12+2.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0254-5853-(2013)03-0174-08

Response of forest bird communities to forest gap in winter in southwestern China

Dong-Dong ZHAO, Ying-Huan WU, Zhou LU, Guang-Wei JIANG, Fang ZHOU*

College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning　530005, China

Abstract: Although forest gap ecology is an important field of study, research remains limited. By plot setting and point counted observation, the response of birds to forest gaps in winter as well as bird distribution patterns in forest gaps and intact canopies were studied in a north tropical monsoon forest of southwestern China from November 2011 to February 2012 in the Fangcheng Golden Camellia National Nature Reserve, Guangxi. The regression equation of bird species diversity to habitat factor was Y_1=0.611+0.002 X_{13}+0.043 X_2+0.002 X_5−0.003 X_8+0.006 X_{10}+0.008 X_1 and the regression equation of bird species dominance index to habitat factor was Y_3=0.533+0.001 X_{13}+0.019 X_2+0.002 X_3−0.017 X_4+0.002 X_1. There were 45 bird species (2 orders and 13 families) recorded in the forest gap, accounting for 84.9% of all birds (*n*=45), with an average of 9.6 species (range: 2−22). Thirty-nine bird species (5 orders and 14 families) were recorded in non-gap areas, accounting for 73.6% of all birds (*n*=39), with an average of 5.3 species (range: 1−12). These results suggested that gap size, arbor average height (10 m from gap margin), arbor quantity (10 m from gap margin), shrub quantity (10 m from gap margin), herbal average coverage (1 m from gap margin) and bare land ratio were the key forest gap factors that influenced bird diversities. On the whole, bird diversity in the forest gap was greater than in the intact canopy. Spatial distributions in the forest gaps were also observed in the bird community. Most birds foraged in the “middle” and “canopy” layers in the vertical stratification. In addition, “nearly from” and “close from” contained more birds in relation to horizontal stratification. Feeding niche differentiation was suggested as the main reason for these distribution patterns.

Keywords: Forest gap; Bird diversity; Spatial distribution; Trophic distribution; Forest

自英国生态学家 Watt (1947)首次提出林窗(forest gap)概念以来，林窗在森林动态及更新中的生态作用逐步受到人们的重视 (Yang et al, 2000)。之后，一些学者补充和完善了林窗的概念 (Connell, 1989; Runkle, 1982, 1989; Spies & Franklin, 1989)。美国森林生态学家Runkle (1981)对林窗的概念进行

收稿日期：2012-12-24；接受日期：2013-02-20

基金项目：广西自然科学基金北部湾重大专项 (2010GXNSFE013004, 2011GXNSFE018001)

*通信作者(Corresponding author)，E-mail: zhoufang@gxu.edu.cn

第一作者简介：赵东东，男，硕士研究生；研究方向：动物生态学；E-mail: zhaodongdong213@163.com

了扩充，将其定义为冠林窗 (canopy gap，指直接处于林冠空窗下的土地面积)和扩展林窗 (expanded gap，指由冠空窗周围的树木所围成的土地面积，包括实际林窗和其边缘到周围树木干基部所围的面积两部分)。

几十年来，林窗动态和林窗对生物多样性的影响逐渐成为热带生态学研究的重点 (Patrick et al, 2012)，20 世纪 80 年代，林窗成为生态领域和林学领域研究的热点 (Xian et al, 2007)。不少研究表明林窗边缘会产生边缘效应，林窗对森林物种多样性以及群落结构、动态和多样性的维持和更新意义重大 (Hong et al, 2000；Zang et al, 1998)。国外有不少关于鸟类对林窗的反应和鸟类在林窗与非林窗分布特征的研究 (Champlin et al, 2009; Noss, 1991; Schemske & Brokaw, 1981; Willson et al, 1982; Wunderle et al, 1987)，而国内尚未有相关报道。

广西防城金花茶国家级自然保护区地处中越边境东端，生物多样性极其丰富，研究森林林窗和鸟类多样性之间的关系对于维持当地物种多样性有着积极的意义。以往的研究多集中于鸟类在林窗与非林窗呈现的分布格局，而对林窗鸟类的食性涉及较少。自 1997 年以来，我们就已在金花茶保护区开展森林鸟类生态学的调查，并于 2011 年 11 月—2012 年 2 月，就北热带季雨林冬季鸟类对林窗的响应特征和鸟类在林窗和非林窗的分布特征等进行了研究，旨在从食性方面来描述鸟类在林窗和非林窗呈现的分布格局，以期为今后林窗理论发展和生物多样性保护提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 研究地点

广西防城金花茶国家级自然保护区位于广西壮族自治区防城港市防城区境内，位于中越边境东端 (E108°02′33″~108°12′52″，N21°43′34″~21°49′39″)，地处十万大山的兰山支脉，面积 9 156 km^2。属热带季风气候，海洋风盛行，年日照时数为 1 525 h，年平均气温 21.9 ℃，年均降雨量>2 900 mm。保护区内以低山山地为主，地势起伏明显，沟壑纵横交错，森林覆盖率达到 88.6%。

保护区主要保护对象为珍稀濒危金花茶组植物及其北热带森林生态系统，地带性植被为热带季雨林。区内分布有金花茶的 3 个种和 1 个变种，共 35 万多株，是金花茶的分布中心，群落生态系统保存完整，为世界罕见。分布有桫椤(*Alsophila spinulosa*)等 14 种国家重点保护植物，另有白鹇 (*Lophura nycthemera*)、原鸡 (*Gallus gallus*)和仙八色鸫 (*Pitta nympha*)等 22 种国家重点保护野生动物。

1.2 研究方法

1.2.1 林窗的选择

在广西防城金花茶国家级自然保护区热带季雨林，寻找距离森林边缘≥50 m (减弱边缘效应)的所有林窗。Lawton & Putz（1988）、Tyrrell & Crow（1994) 认为林窗的范围应确定为 4~1 000 m^2，<4 m^2 的间隙很难与林中的枝叶间隙区分开来，而 > 1000 m^2 的范围则一般被当作林中空地来处理，因此，我们调查时排除<4 m^2 和>1 000 m^2 的样本，对每个适用林窗分别编号 (1、2、3…，n=41)，并记录其海拔、经纬度 (采用 Garmin-eTrex-GPS 接收机)、行进轨迹 (采用 HOLUX 轨迹仪)、坡向和坡度 (采用罗盘记录)等。

在距每个林窗 30 m 的树林选取一个与该林窗面积、坡向、坡度及海拔相同的对照样方。对照组(n=41)之间间隔≥30 m，另外每个对照组距离林缘也≥50 m，以减轻边缘效应的影响。

1.2.2 生境变量

鸟类对不同特点的生境外貌轮廓会作出不同的反应，其组成主要由植被结构所决定 (Hinsley, 2000)，这就导致鸟类在森林中会呈现一定的分布格局。之前一些研究 (Schemske & Brokaw, 1981; Wunderle et al, 2005, 2006) 采用林窗不同高度枝叶的覆盖率作为衡量指标，而这里，我们选取了更多的生境变量来衡量鸟类对林窗和非林窗生境特征差异的反应变化。

2011 年 11 月—2012 年 2 月，记录各林窗的裸地比例 (X_1)，林窗外 10 m 乔木的平均高度 (X_2)、平均盖度(X_3)、平均胸径(X_4)、数量(X_5)，林窗外 10 m 灌木的平均高度 (X_6)、平均盖度(X_7)、数量(X_8)以及林窗外 1 m 草本的平均高度 (X_9)、平均盖度(X_{10})、数量(X_{11})等共 11 个生境因子。并测量各林窗的长轴和短轴，长轴/短轴为 X_{12}，林窗面积为 X_{13}。同时记录非林窗 (non-gap)的相应数据。

为了探究鸟类在林窗内的垂直分层，我们将林窗平均分为地表层、林窗下层 (树木盘根和灌木丛)、林窗中层 (灌木丛顶部到树冠下部)和林冠层 4 个层面 (Wunderle et al, 2005, 2006)。

1.2.3 鸟类

一些鸟类对林窗反应的相关研究 (Champlin et al, 2009; Levey, 1988; Wunderle et al, 2005, 2006; Schemske & Brokaw, 1981) 运用雾网捕获来获取数据，但鉴于雾网不具备取样的随意性(Karr, 1981), 其结果只能说明不同时间段的捕获率，而不能说明鸟类在空间上对林窗的反映情况，且由于其高度(2~4 m)限制，很难捕获上层鸟类，伸展区域小。因此，本研究采用定点观察法，在每个林窗中心和对照样方中心各停留 20 min，用 8×42 双筒望远镜(SICONG) 观察 (包括根据听到的鸣声所作出的判断)并记录林窗和距林窗边缘 25 m 范围内鸟类的种类和数量。其中，若鸟类个体距观察者>25 m 或个体从林窗上空飞过及在高空翱翔则不予记录。

另参考 Wardell-Johnson & Williams (2000)对样点法的运用，当某种鸟类首次在该林窗观察到，我们记录该鸟与林窗中轴的相对距离 (即林窗内、近离林窗 (林窗外 0~9 m)、较近离林窗 (林窗外 9~18 m)和远离林窗 (林窗外 18~25 m))及其活动高度(地表层、林窗下层、林窗中层和林冠层)。每个林窗观察多次 (n=15)，取多次观察数据的平均值作为该林窗的鸟类数据。

根据鸟类的主要食性，依据我们对广西南部地区 (包括金花茶保护区)鸟类的长期研究，参考广西大学动物标本馆和广西科学院动物标本馆对有关鸟类的冬季食性记录，以及对中国北热带地区鸟类文献的有关研究 (Yang et al, 1995; Yang et al, 2004; Zhou, 1987; Zhou, 1988)。将鸟类划分为食虫、食果和食花蜜集团。

调查选在晴朗、风力较小（<三级）的 6:30—10:00 和 16:00—18:30 进行。为保证同步性，调查人员分为两组，同时分别记录林窗及非林窗数据，并在之后的同组调查中对换调查人员，以减小个人差异带来的误差。

1.2.4 数据处理

由于目前林窗的概念仍以冠林窗概念应用居多 (Liu et al，2003)，并且冠林窗更能准确反映其对林隙内微生境及更新的影响 (Song et al, 2008)，故测量各林窗面积时以冠林窗面积表示林窗面积。其中：

(1) 由于所调查林窗多呈椭圆形，因此采用椭圆面积计算公式计算林窗面积 (Zang et al, 2004)。

$$A=\pi LW/4$$

其中：A 为林窗面积 (m^2)，L 为林窗长轴 (m)，W 为林窗短轴 (m)。

(2) 采用 Shannon-Wiener 多样性指数来测度每个林窗的鸟类多样性：

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} P_i \ln P_i$$

其中：H' 为物种多样性指数，S 为总的物种数，P_i 为第 i 物种个体数与所有物种个体数总数的比值。

(3) Pielou 指数测度均匀度：

$$J= H'/H'_{max}$$

其中：H'_{max} 即 ln$S$。

(4) 优势度指数 C 采用公式：

$$C=1-\sum_{i=1}^{s} P_i^2$$

(5) 采用 Jaccard 相似性系数 $S=c/(a+b-c)$衡量对照组之间的相似性。其中，a 为生境 A 中的鸟类种数；b 为生境 B 中的鸟类种数；c 为 2 种生境中共有的鸟类种数。根据相似性系数原理，C_j=0.00~0.25，为极不相似；C_j=0.25~0.50，为中等不相似；C_j=0.50~0.75，为中等相似；C_j=0.75~1.00，为极相似 (Zhang et al, 2008; Zou et al, 2009)。

设定鸟类 Shannon-Wiener 多样性指数为 Y_1，Pielou 均匀度指数为 Y_2，优势度指数 C 为 Y_3。对于林窗生境参数，采用多独立样本的 Jonckheere-Terpstra test 来检验这 13 种数值型生态因子的差异性。

根据多元线性回归可从若干自变量组合中预测因变量，并可确定对因变量有重要影响的主要因子 (Wang et al, 2003)。对这 13 个数值型生态因子进行多元线性回归分析，采用向后筛选策略模型，以确定影响林窗鸟类多样性的关键因子。以上数据处理均采用 SPSS17.0 统计软件分析包。

2 结 果

2.1 生境变量

对于林窗生境参数，多独立样本的 Jonckheere-Terpstra test 检验表明，林窗外 10 m 灌木数量 (p=0.000<0.01)、林窗外 10 m 乔木平均高度(p=0.002<0.01)及林窗外 10 m 乔木平均盖度差异极显著(p=0.008<0.01)，林窗面积 (p=0.088<0.05)及林窗外 1 m 草本数量差异显著 (p=0.043<0.05)，长轴/短轴、裸地比例、林窗外 10 m 乔木平均胸径、林窗外 10 m 乔木数量、林窗外 10 m 灌木平均高度、林窗外 10 m

灌木平均盖度、林窗外 1 m 草本平均高度及林窗外 1 m 草本平均盖度等差异不显著（$p>0.05$）。

设定多样性指数 Y_1，均匀度指数 Y_2，优势度指数 Y_3 为因变量，对这 13 个生态因子行多元线性回归分析（表 1，表 2，表 3），采用向后筛选策略模型。

向后筛选策略模型结果表明，林窗面积（X_{13}）、林窗外 10 m 乔木平均高度（X_2）、林窗外 10 m 乔木数量（X_5）、林窗外 10 m 灌木数量（X_8）、林窗外 1 m 草本平均盖度（X_{10}）及裸地比例（X_1）等为影响鸟类多样性的关键因子，回归方程为：$Y_1=0.611+0.002X_{13}+0.043X_2+0.002X_5-0.003X_8+0.006X_{10}+0.008X_1$；均匀度指数和生境变量之间不存在线性关系；林窗面积（X_{13}）、林窗外 10 m 乔木平均高度(X_2)、林窗外 10 m 乔木平均盖度（X_3）、林窗外 10 m 乔木平均胸径（X_4)及裸地比例（X_1)等为影响鸟类优势度的关键因子，回归方程为：

$$Y_3=0.533+0.001X_{13}+0.019X_2+0.002X_3-0.017X_4+0.002X_1$$。

表 1　Shannon-Wiener 多样性指数 Y_1 回归分析结果

Table 1　Multi-linear regression of Shannon-Wiener index

模式 Model	非标准化回归系数 Unstandardized coefficients		标准化回归系数 Standardized coefficients	T 统计量	显著性水平 Sig.	共线性统计 Collinearity Statistics	
	回归系数 B	标准误 Std.Error	回归系数 Beta			容忍度 Tolerance	膨胀因子 VIF
常数 Constant	0.611	0.266	—	2.301	0.028	—	—
林窗面积（X_{13}）	0.002	0.000	0.577	5.465	0.000	0.967	1.035
林窗外 10 m 乔木平均高度（X_2）	0.043	0.021	0.242	2.011	0.052	0.744	1.344
林窗外 10 m 乔木数量（X_5）	0.002	0.001	0.224	1.823	0.077	0.714	1.400
林窗外 10 m 灌木数量（X_8）	−0.003	0.001	-0.268	-2.206	0.034	0.729	1.371
林窗外 1 m 草本平均盖度（X_{10}）	0.006	0.002	0.373	3.114	0.004	0.750	1.333
裸地比例（X_1）	0.008	0.003	0.310	2.564	0.015	0.739	1.354

表 2　Pielou 均匀度指数回归分析结果

Table 2　Multi-linear regression of Pielou index

模式 Model	非标准化回归系数 Unstandardized coefficients		标准化回归系数 Standardized coefficients	T 统计量	显著性水平 Sig.	共线性统计 Collinearity Statistics	
	回归系数 B	标准误 *SE*	回归系数 Beta			容忍度 Tolerance	膨胀因子 VIF
常数 Constant	0.872	0.037	—	23.543	0.000	—	—

表 3　优势度指数 C 回归分析结果

Table 3　Multi-linear regression of C index

模式 Model	非标准化回归系数 Unstandardized coefficients		标准化回归系数 Standardized coefficients	T 统计量	显著性水平 Sig.	共线性统计 Collinearity Statistics	
	回归系数 B	标准误 *SE*	Beta			容忍度 Tolerance	膨胀因子 VIF
Constant	0.533	0.061	—	8.787	0.000	—	—
林窗面积（X_{13}）	0.001	0.000	0.603	5.427	0.000	0.932	1.073
林窗外 10m 乔木平均高度（X_2）	0.019	0.008	0.485	2.412	0.022	0.284	3.521
林窗外 10 m 乔木平均盖度（X_3）	0.002	0.001	0.326	2.590	0.014	0.727	1.376
林窗外 10 m 乔木平均胸径（X_4）	−0.017	0.008	−0.442	−2.064	0.047	0.251	3.989
林窗外 10 m 灌木数量（X_8）	0.000	0.000	−0.236	−1.787	0.083	0.658	1.520
林窗外 1 m 草本数量（X_{11}）	0.000	0.000	0.326	2.684	0.011	0.781	1.281
裸地比例（X_1）	0.002	0.001	0.256	2.206	0.035	0.856	1.168

2.2　鸟类群落组成差异

对于 41 个对照组，我们共观察 615 次（n=4×15 次），林窗和非林窗共记录到鸟类 53 种（5 目 17 科）。其中，在林窗记录到 45 种（2 目 13 科），占所有鸟类的 84.9% (n=45)，平均种数为 9.6 种(2~22)，在非林窗记录到 39 种（5 目 14 科），占所有鸟类的

73.6% (n=39)，平均种数为 5.3 种(1~12)。

在林窗(t=0.443, p>0.05, df=39)及非林窗 (t=0.874>0.05, df=39)所记录到的鸟类种数差异不显著，且最常见的均为栗背短脚鹎(*Hypsipetes castanonotus*)和灰眶雀鹛 (*Alcippe morrisonia*) (遇见率分别为 100%、97.56%及 85.37%、87.80%)。

林窗和非林窗的鸟类集群特征各异。对比每一对照组，能够得出每组的相似和不同情况。记录到的鸟类种数仅在第 29 号对照组情况不一致，其林窗为 3 种，非林窗为 4 种；第 2、3、19、23 及 26 号对照组中，林窗和非林窗鸟类种数相同；其余均为林窗多于非林窗。但从多样性指数对比可知，林窗鸟类多样性均大于非林窗，其中多样性指数最大的为第 7 号林窗 (2.7)，共记录到鸟类 21 种，多样性最低的为第 3 号林窗 (0.67)，仅记录到鸟类 2 种，即栗背短脚鹎和极北柳莺 (*Phylloscopus borealis*)；多样性最低的非林窗为 37 号非林窗，仅记录到灰眶雀鹛一种鸟类。

均匀度和优势度指数比较说明，林窗总体大于非林窗，但也有例外，如 39 号非林窗均匀度及 29 号非林窗优势度均大于林窗。相似性对比表明，每个对照组的相似性居于中等水平(～0.45)，其中，8 号和 15 号对照组相似性最高 (0.75)，7 号对照组最低 (0.48)。

2.2.1 食性集团分布格局

用某种食性集团的种数/总种数来衡量鸟类食性分布。林窗记录到食虫集团 77% (35/45)，食果集团 13% (6/45)及食花蜜集团 10% (4/45)。非林窗记录到食虫集团 79% (31/39)，食果集团 20% (7/39)及食花蜜集团 1% (1/39)。林窗的食花蜜集团比例远远大于非林窗 (10/1)，而食虫集团 (77/79)和食果集团 (13/20)则相反 (图 1)。

2.2.2 活动空间分布格局

垂直分布上，食虫集团鸟类在林窗和非林窗均主要分布于中、下层，但是在中层和林冠层分布的食虫集团要多于非林窗的相应层面，下层和地表层则相反。食果集团在林窗林冠层远远大于非林窗的相应层面，在中层两者种数相同，但是在下层和地表层，食果集团仅出现在非林窗。食花蜜集团分布趋势则很明显，林窗总体大于非林窗，在林窗中层和林冠层尤为明显。

水平分布上，食虫集团主要分布于较近离和远离的区域，非林窗仅在“林窗内”大于林窗；食果集团的分布在林窗是以近离和远离为主，而在非林窗以远离为主；食花蜜集团在林窗以近离和较近离为主，在非林窗，其分布基本一致，无太大偏差。

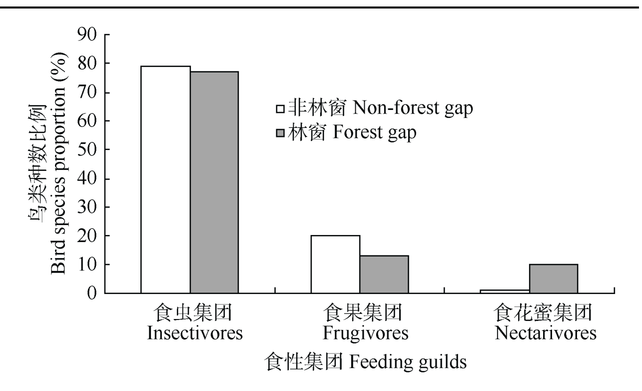


图 1 林窗与非林窗鸟类食性集团的分布格局

Figure 1 Distribution pattern of bird feeding guilds in forest gap and non-forest gap

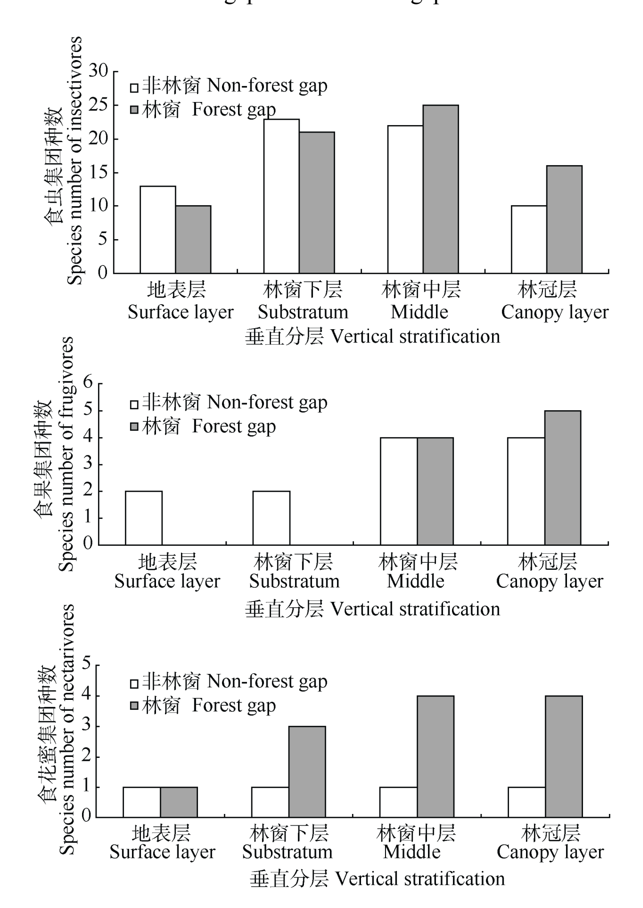


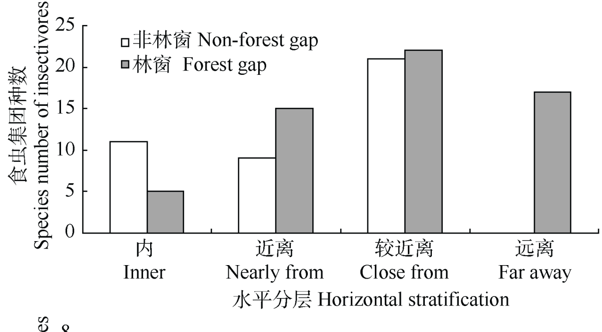
图 2 三种食性集团在林窗与非林窗的垂直分层

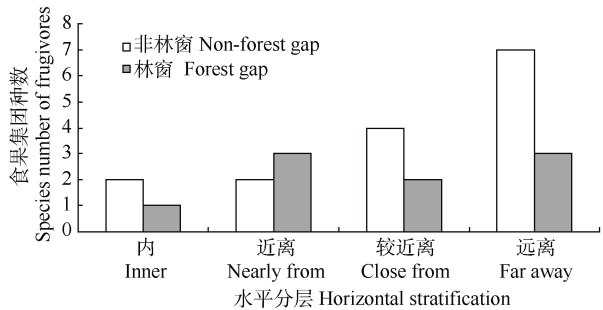
Figure 2 Vertical stratification of three feeding guilds in forest gap and non-forest gap

3 讨 论

3.1 林窗影响鸟类多样性的因子

一些研究 (Blake & Hoppes, 1986; Levey, 1988;





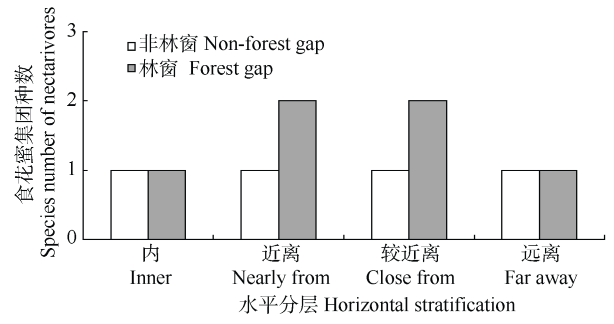


图 3　三种食性集团在林窗与非林窗的水平分层
Figure 3　Horizontal stratification of three feeding guilds in forest gap and non-forest gap

Noss, 1991; Schemske & Brokaw, 1981) 指出林窗会影响鸟类群落的组成和丰富度，但对涉及其中的影响因子却讨论很少。而我们通过对 13 个生境因子的分析表明，在北热带冬季的季雨林中，林窗面积、林窗外 10 m 乔木平均高度、林窗外 10 m 乔木数量、林窗外 10 m 灌木数量、林窗外 1 m 草本平均盖度和裸地比例等是影响鸟类多样性的关键因子。

林窗外 10 m 乔木平均、数量和林窗外 10 m 灌木数量是对鸟类多样性影响大的因子，是较大的轮廓，即鸟类对不同的高大树木的高度和数量会作出不同的反应。而林窗外 1 m 草本平均盖度和裸地比例能给予森林内下层鸟类很好的保护，大的草本盖度和小的裸地比例能够很好地屏蔽这些鸟类，有利于其躲避危险及搜索食物，如短尾鹪鹛用(*Napothera brevicaudata*)、灰眶雀鹛和红头穗鹛(*Stachyris ruficeps*)等。

林窗面积是林窗的重要特征，直接影响着林窗内的小气候状况和微环境特征，对林窗内物种更新的种类数量及分布具重要影响 (Totland et al, 2005)。我们的研究中，面积最小的林窗为 4.12 m^2，仅观察到灰眶雀鹛和栗背短脚鹎。面积最大的林窗为 565.2 m^2，共记录到 17 种鸟类，除棕腹大仙鹟(*Niltava davidi*)、白腹凤鹛 (*Erpornis zantholeuca*)和方尾鹟 (*Culicicapa ceylonensis*)等常见种类外，也记录到如红翅鵙鹛 (*Pteruthius flaviscapis*)等不常见种类。鸟类多样性整体上随林窗面积增大而增加，可能与增大边缘效应及“岛屿”效应有关。每个林窗相对于森林均为“岛屿”，按照岛屿理论，物种数会随岛屿面积的增大而增加。面积大的林窗会产生更多的光照，而更多的光照会促进一些树种的更新 (Lorimer, 1989; Runkle, 1982)并增加果实的产量，从而增加林窗内昆虫等节肢动物的丰富度和多样性，且更多的食物资源也将导致林窗内鸟类密度和多样性的增加。鸟类往往在大的林窗边缘出现，这可能与视野有关，有利于其觅食和躲避危险。但是，由于实验调查数据通常是不充分的，因此，并不能排除面积效应 (Parker et al, 2004)。

3.2　森林鸟类在林窗和非林窗的分布格局

Wunderle et al (1987)的研究指出，林窗食果集团鸟类多样性大于非林窗。而我们的研究结果则表明，林窗食果集团和食虫集团鸟类多样性小于非林窗，食花蜜集团远大于非林窗。造成这种不同分布格局的原因可能是由气候带差异引起，也可能是由季节差异引起。我们的研究于北热带地区冬季进行，温、湿度即使在冬季仍然较高，而 Wunderle 的研究则于寒温带夏季进行。

在林窗中层和林冠层分布的食虫集团种类多于非林窗的相应层面，林窗下层和地表层则相反，这可能是食虫鸟类生态位分化的结果，林窗中、上层和非林窗下层拥有更多的食物资源。食果集团在林窗林冠层分布远大于非林窗，但是在中、下层和地表层，食果集团仅出现在非林窗，其原因是食果集团在林窗林冠层享有更多的食物资源，且需要在非林窗下层才可以得到补偿。3 种食性集团的鸟类在水平分布上，以近离和较近离为主，表明鸟类在林窗附近取食，而非远离林窗，说明林窗为鸟类提供了一定的食物来源。因为林窗会促进花和果实的增长，林下层专有鸟类的多样性会降低，尤其是食昆虫鸟类 (Johns, 1988; Mason, 1996; Thiollay, 1992)。

我们的研究于冬季开展，物种在林窗与非林窗的觅食会因时间的不同而出现差异 (Wunderle et al, 2006)，而在夏季，该差异是否会有变化，仍需进一步研究。林窗是流动的镶嵌体，随着时间的推移，会被逐渐填满或替代，这就要求对其进行长期的观测。另外，我们的研究于热带季雨林进行，在其他林型是否成立，也需要进一步研究。除此之外，北热带地区的森林鸟类林窗生态学研究甚为匮乏，应加强在该地区的研究。

致谢：参加野外工作的还有杨岗、李肇天、廖晓雯等人，野外工作得到了广西防城金花茶国家级自然保护区全体工作人员的支持和帮助，在此表示感谢。

参考文献：

Blake JG, Hoppes WG. 1986. Influence of resource abundance on use of tree-fall gaps by birds in an isolated woodlot. *The Auk,* **103**(2): 328-340.

Champlin TB, Kilgo JC, Gumpertz, ML, Moorman, CE. 2009. Avian response to microclimate in canopy gaps in a bottomland hardwood forest. *Southeastern Naturalist,* **8**(1): 107-120.

Connell JH. 1989. Some processes affecting the species composition in forest gaps. *Ecology,* **70**(3): 560-562.

Hinsley SA. 2000. The costs of multiple patch use by birds. *Landscape Ecology,* **15**(8): 765-775.

Hong W, Wu CZ, Lin CL, Lai JM. 2000. Gap edge effect of the forest communities in LongXi Mountain, Fujian province. *Scienia Silvae Sinicae,* **36**(2): 33-38. [洪伟, 吴承桢, 林成来, 赖建明. 2000. 福建龙栖山森林群落林窗边缘效应研究. 林业科学, **36**(2): 33-38.]

Johns AD. 1988. Effects of “selective” timber extraction on rain forest structure and composition and some consequences for frugivores and folivores. *Biotropica,* **20**(1): 31-37.

Karr JR. 1981. Surveying birds with mist nets. *Studies in Avian Biology,* **6**: 62-67.

Lawton RO, Putz FE. 1988. Natural disturbance and gap-phase regeneration in a wind-exposed tropical cloud forest. *Ecology,* **69**(3): 764-777.

Levey DJ. 1988. Tropical wet forest treefall gaps and distributions of understory birds and plants. *Ecology,* **69**(4): 1076-1089.

Liu JF, Hong W, Li JQ, Yang WH. 2003. Gap natural disturbance regime in the *Castanopsis kawakamii* forest. *Acta Ecologica Sinica,* **23**(10): 1991-1999. [刘金福, 洪伟, 李俊清, 杨文晖. 2003. 格氏栲林林窗自然干扰规律. 生态学报, **23**(10): 1991-1999.]

Lorimer CG. 1989. Relative effects of small and large disturbances on temperate hardwood forest structure. *Ecology,* **70**(3): 565-567.

Mason D. 1996. Responses of Venezuelan understory birds to selective logging, enrichment strips, and vine cutting. *Biotropica,* **28**(3): 296-309.

Noss RF. 1991. Effects of edge and internal patchiness on avian habitat use in an old-growth Florida hammock. *Natural Areas Journal,* **11**: 34-47.

Patrick M, Fowler D, Dunn RR, Sanders NJ. 2012. Effects of treefall gap disturbances on ant assemblages in a Tropical Montane cloud forest. *Biotropica,* **44**(4): 472-478.

Parker TH, Stansberry BM, Becker CD, Gipson PS. 2004. Edge and area effects on the occurrence of migrant forest songbirds. *Conservation Biology,* **19**(7): 1157-1167.

Runkle JR. 1981. Gap regeneration in some old-growth forests of the eastern United States. *Ecology,* **62**(4): 1041-1051.

Runkle JR. 1982. Patterns of disturbance in some old-growth mesic forest of eastern North America. *Ecology,* **63**(5): 1533-1546.

Runkle JR. 1989. Synchrony of regeneration, gaps, and latitudinal differences in tree species diversity. *Ecology,* **70**(3): 546-547.

Schemske DW, Brokaw N. 1981. Treefalls and the distribution of understory birds in a tropical forest. *Ecology,* **62**(4): 938-945.

Song XZ, Zhang ZT, Xiao WF, Huang ZL, Liu XX. 2008. Study on seedling regeneration of arbor and shrub in logging gaps in *Populus davidiana-Betula platyphylla* secondary forests in Changbai Mountain. *Forest Research,* **21**(3): 289-294. [宋新章, 张智婷, 肖文发, 黄志霖, 刘晓昕. 长白山次生杨桦林采伐林隙乔灌木幼苗更新比较研究. 林业科学研究, **21**(3): 289-294.]

Spies TA, Franklin JF. 1989. Gap characteristics and vegetation response in coniferous forests of the Pacific Northwest. *Ecology,* **70**(3): 543-545.

Tyrrell LE, Crow TR. 1994. Structure characteristics of old-growth hemlock-hardwood forests in relation to age. *Ecology,* **75**(2): 370-386.

Thiollay JM. 1992. Influence of selective logging on bird species diversity in a Guianan rain forest. *Conversation Biology,* **6**(1): 47-63.

Totland Ø, Nyeko P, Bjerknes AL, Herland SJ, Nielsen A. 2005. Does forest gap size affects population size, plant size, reproductive success and pollinator visitation in *Lantana camara*, a tropical invasive shrub? *Forest Ecology and Management,* **215**(1): 329-338.

Wang YP, Chen SH, Ding P. 2003. Breeding birds and their nests in street tree strips in Hangzhou city. *Zoological Research,* **24**(4): 259-264. [王彦平, 陈水华, 丁平. 2003. 杭州城市行道树带的繁殖鸟类及其鸟巢分布. 动物学研究, **24**(4): 259-264.]

Watt AS. 1947. Pattern and process in the plant community. *Journal of Ecology,* **35**(1-2): 1-22.

Wardell-Johnson G., Williams M. 2000. Edges and gaps in mature karri forest, south-western Australia: Logging effects on bird species abundance and diversity. *Forest Ecology and Management,* **131**(1-3): 1-21.

Willson MF, Porter EA, Condit RS. 1982. Avian frugivore activity in relation to forest light gaps. *Caribbean Journal of Science,* **18**: 1-4.

Wunderle JM Jr, Diaz A, Velazquez I, Scharrón R. 1987. Forest openings and the distribution of understory birds in a puerto rican rainforest. *The Wilson Bulletin,* **99**(1): 22-37.

Wunderle JM Jr, Willig MR, Henriques LMP. 2005. Avian distribution in treefall gaps and understorey of terra firme forest in the lowland Amazon. *Ibis,* **147**(1): 109-129.

Wunderle JM Jr, Henriques LMP, Willig MR. 2006. Short-term responses of birds to forest gaps and understory: an assessment of reduced-impact logging in a lowland amazon forest. *Biotropica,* **38**(2): 235-255.

Xian JR, Hu TX, Zhang YB, Wang KY. 2007. Effects of forest canopy gap on *Abies faxoniana* seedling's biomass and its allocation in subalpine coniferous forest of west Sichuan. *Chinese Journal of Applied Ecology,* **18**(4): 721-727. [鲜骏仁, 胡庭兴, 张远彬, 王开运. 2007. 林窗对川西亚高山岷江冷杉幼苗生物量及其分配格局的影响. 应用生态学报, **18**(4): 721-727.]

Yang L, Wen JX, Han XL, Yang XJ. et al. 1995. The Avifauna of Yunnan China. Vol. Ⅰ: Passeriformes. Kunming: Science and Technology Press. [杨岚, 文贤继, 韩联宪，杨晓君. 1995. 云南鸟类志上卷·非雀形目. 昆明: 云南科技出版社.]

Yang L, Yang XJ, et al. 2004. The Avifauna of Yunnan China. Vol. II: Passeriformes. Kunming: Science and Technology Press. [杨岚, 杨晓君等. 2004. 云南鸟类志下卷·雀形目. 昆明: 云南科技出版社.]

Yang XD, She YP, Cao M. 2000. A preliminary comparison of structure of insect community in Xishuangbanna tropical rain forest at different growth stages. *Zoological Research,* **21**(5): 367-373. [杨效东, 佘宇平, 曹敏. 2000. 西双版纳热带雨林不同生长时期昆虫群落结构的初步比较. 动物学研究, **21**(5): 367-373.]

Zang RG, Guo ZL, Gao WT. 1998. Gap regeneration in a broadleaved-Korean pine forest in Changbai Mountain Natural Reserve. *Chinese Journal of Applied Ecology,* **9**(4): 349-353. [臧润国, 郭忠凌, 高文韬. 1998. 长白山自然保护区阔叶红松林林隙更新研究. 应用生态学报, **9**(4): 349-353.]

Zang RG, An SQ, Tao JP. 2004. Maintaining Mechanism of Species Diversity of the Tropical Forest in Hainan Island. Beijing: Beijing Science Press. [臧润国, 安树青, 陶建平. 2004. 海南岛热带林生物多样性维持机制. 北京: 科学出版社.]

Zhang DZ, He DH, Yu YZ, Li YC, Dai JX, Hu YP, Chen X, Li QY. 2008. Community diversity of litter-layer beetles in the Baijitan National Nature Reserve of Ningxia. *Zoological Research,* **29**(5): 569-576. [张大治, 贺达汉, 于有志, 李岳诚, 代金霞, 胡玉鹏, 陈鑫, 李启用. 2008. 宁夏白芨滩国家级自然保护区地表甲虫群落多样性. 动物学研究, **29**(5): 569-576.]

Zhou F. 1987. Guilds structure of forest bird community in Dinghushan. *Acta Ecologica Sinica,* **7**(2): 76-184. [周放. 1987. 鼎湖山森林鸟类群落的集团结构. 生态学报, **7**(2): 176-184.]

Zhou F. 1988. Observation of *Tarsiger cyanurus'* overwintering ecological habits. *Chinese Journal of Zoology,* **23**(1): 22-24. [周放. 1988. 红胁蓝尾鸲越冬生态习性的观察. 动物学杂志, **23**(1): 22-24.]

Zou T, Shen HX, Ma ZX, Ning YZ. 2009. Community characteristics of soil Sarcomastigophora in the Mayan forest region of the National Nature Reserve of Xiaolong Mountains. *Zoological Research,* **30**(5): 571-577. [邹涛, 申海香, 马正学, 宁应之. 2009. 小陇山国家自然保护区麻沿林区土壤肉鞭虫群落特征. 动物学研究, **30**(5): 571-577.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 182−189 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0182

杭州城市环境中白头鹎的繁殖生态

兰思思[1]，张 琴[1]，黄 秦[2]，陈水华[1,2,*]

1. 浙江师范大学 化学与生命科学学院，浙江 金华 321004；
2. 浙江自然博物馆，浙江 杭州 310014

摘要：白头鹎 (*Pycnonotus sinensis*) 是一种中国南方城市分布广泛、种群数量丰富的鸟类。其对环境变化和人类活动的适应能力已引起关注。2012 年 3—7 月，在杭州城市环境下，对白头鹎的繁殖生态进行了系统调查，共记录到白头鹎繁殖鸟巢 117 巢。结果显示，在杭州市区，白头鹎主要在居民小区、行道树和绿化带的树冠层筑巢，主要营巢植物为桂树 (*Osmanthus fragrans*)，占总数的 84.6% (*n*=117)。所有繁殖巢距地面均高 (3.16±0.91) m (*n*=117)。3 月底开始筑巢产卵，产卵高峰集中在 4 月 11—25 日。窝卵数为(3.37±0.48) 枚 (*n*=103)，孵化期为 (11.34±1.12) d (*n*=32)，育雏期为(11.85±1.12) d (*n*=47)。孵化率为 68.3% (*n*=111)，离巢率为 52.1% (*n*=117)，总繁殖成功率为 34.7% (*n*=111)。繁殖失败原因主要包括卵及雏鸟被捕食、人为干扰等。

关键词：白头鹎；城市化；繁殖生态；巢位选择；适应性
中图分类号：Q959.7[+]39 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0182-08

Breeding ecology of Chinese Bulbul in the urban environment of Hangzhou, China

Si-Si LAN [1], Qin ZHANG [1], Qin HUANG [2], Shui-Hua CHEN [1,2,*]

1. *College of Chemistry and Life Sciences*, *Zhejiang Normal University*, *Jinhua* 321004, *China*；
2. *Zhejiang Museum of Natural History*, *Hangzhou* 210014, *China*

Abstract: The Chinese Bulbul, *Pycnonotus sinensis,* is one of the most abundant and widely distributed birds of south China, settling even in dense urban areas. From March-July 2012, we surveyed the Chinese Bulbul in the urban environment of Hangzhou, China, to gain a clearer perspective on their breeding ecology. Totally, 117 nests were found, mainly on the trees of *Osmanthus fragrans* (84.6%, *n*=117) in residential areas，street tree strips, and green belt. Our results include several noteworthy observations: nest height from the ground was 3.16±0.91 m (*n*=117); egg-laying begins in early April with peak times from April 11−25; and the nesting period was 11.85±1.12 days (*n*=47). In terms of fertility and reproduction, we also observed that the average incubation period was 11.34±1.12 days (*n*=32); average clutch size was 3.37±0.48 eggs (*n*=103); hatching success 68.3%, fledging rate 52.1%, and the total breeding success 35.58% (*n*=117). The main causes of breeding failure included egg and fledgling predation, as well as human disturbance.

Keywords: *Pycnonotus sinensis*; Urbanization; Breeding ecology; Nest site selection; Adaptation

城市化在全世界范围正愈演愈烈，所带来的生态过程，包括片段化、生态隔离、自然栖息地消失、道路建筑等人工栖息地产生、人类活动干扰、热岛效应、污染和噪音等，已在不同方面对生活在城市的哺乳动物 (Mahan & O’Connell, 2005)、爬行动物(Germaine & Wakeling, 2001)、两栖动物(Parris, 2006; Riley et al, 2005) 及鸟类 (Melles et al, 2003; Marzluff & Rodewald, 2008)等产生了影响。鸟类作为城市中最常见的动物类群，其对城市化的反应已引起了生态学家的特别关注。从种群水平上，一些学者根据鸟类对城市化所表现出的不同反应将城市鸟类总体上分为城市适应种和城市敏感种两大

收稿日期：2012-11-30；接受日期：2013-02-03
基金项目：国家自然科学基金资助项目 (31071908)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: birdchen@hotmail.com
第一作者简介：兰思思(1987−), 女, 四川中江县人, 硕士研究生, 主要从事鸟类生态学研究

类 (Blair, 1996; Croci et al, 2008)，或者城市开拓种、乡村适应种和城市回避种三大类(Conole & Kirkpatrick, 2011)。进一步研究发现，城市适应种在城市栖息地可通过改变食性(Fleischer et al, 2003)、鸣叫 (Slabbekoorn & Peet, 2003; Brumm, 2004; Wood & Yezrinac, 2006; Nemeth & Brumm, 2009; Nemeth et al, 2013)、巢材 (Wang et al, 2008; 2009)乃至形态大小 (Liker et al, 2008)来适应城市环境。在中国南方广大城市，白头鹎 (*Pycnonotus sinensis*)正是这样一种分布广、数量多的典型城市开拓种(Chen 2000；Wang et al, 2009)，其适应人类活动及其种群扩张的趋势已逐渐引起关注(Han et al, 2004；Ding & Jiang, 2005；Wang et al, 2009；Yu et al, 2011)。

白头鹎属雀形目(Passeriformes)鹎科(Pycnonotidae)，主要分布于中国南部、越南北部和日本琉球群岛(MacKinnon & Phillipps, 1999; Woxvold et al, 2009)。在中国中部、南部及东南沿海，白头鹎是最常见留鸟之一 (Zhuge et al, 1990)。近年来不断发现白头鹎有向北、向西扩散的趋势，已在中国大连 (Wang et al, 2005)、北京 (Zhang et al, 2003)、河北 (Zhang, 2010)、东北 (Song, 2006)甚至青海 (Li et al, 2006; Du & Ma, 2011)等地发现白头鹎个体。白头鹎常栖息在人工林地和居民点附近，对人类活动有较高耐受性 (Hoyo et al, 2005)。在南充市，白头鹎已由常见种转为优势种，成为与人类密切相关的城市鸟类之一 (Yu et al, 2011)。在杭州城区，白头鹎是仅次于麻雀的最适应城市化的鸟类(Chen, 2000)。研究发现，不同地区的白头鹎鸣声有很大差异，且普遍存在方言 (Jiang et al, 1994; 1996)，越是邻近分布的个体鸣唱越相似 (Yang & Lei, 2008)。这种微地理鸣声方言的产生可能与个体扩散和城市环境下人为改变鸟类栖息地有关 (Ding & Jiang, 2005)。有研究提出提高鸣声频率，能避免低频噪声对鸣声的掩蔽作用 (Slabbekoorn & Peet, 2003)，推测城市化环境中的白头鹎也具有此行为(Han et al, 2004)。生理方面，有研究认为鸟类经过低温驯化后可通过提高基础代谢率和增加肌肉重量来适应低温环境 (Williams & Tieleman, 2000)，而白头鹎也具有这种驯化可塑性 (Zhang et al, 2008)，这可能是白头鹎能够适应寒冷环境而向北扩散的原因之一。繁殖行为和生活史特征的适应是物种对于环境变化适应的基础，然而，目前对白头鹎的繁殖生态还缺乏了解。早期对白头鹎繁殖生态的调查和观察涉及繁殖前活动、营巢行为、产卵时间、窝卵数、卵量度、孵化行为、育雏行为及雏鸟生长状况等 (Li, 1981; Liu & Long, 1986; Zhu, 1991)，但相对较为零散。近些年有学者开始对城市环境下的白头鹎予以关注，分别从营巢时间、巢址选择、产卵时间、平均窝卵数、卵量度、孵化期及雏鸟生长状况等方面研究其繁殖生态 (Han & Zhou, 2005; Chen et al, 2006)，但仍缺乏系统了解。本研究于2012 年春、夏季在杭州城市环境中对白头鹎繁殖生态进行了相对全面的调查，为探索城市环境下白头鹎的繁殖和适应机制提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

杭州市位于中国东南沿海北部，为浙江省省会(E118°21′～120°30′，N29°11′～30°33′)，总面积16596 km^2，常驻人口 870.04 万。杭州西北部和西南部为山丘陵区，海拔 200～300 m，从西南高丘陵向东北逐渐过渡到低丘陵至平原。丘陵山地占总面积的 65.6%，平原占 26.4%。为中亚热带常绿阔叶林植被，平均森林覆盖率为 62.8%。属钱塘江水系，有京杭大运河、西湖及西溪湿地等，总水域面积为 131.4 km^2。杭州为亚热带季风性湿润气候，年平均气温 16.1 ℃，年平均降雨量 1500 mm，年平均蒸发量 1250 mm。常年无霜期 243 d，年日照时数为 1950 h (Chen, 2000)。

1.2 野外调查

野外工作在 2012 年 3—7 月进行，调查范围限定在杭州城区，包括商业区、居民小区、行道树带、大学校园、城市公园和近郊林地等多种生境。观察白头鹎的各种行为，当确定繁殖开始后进行繁殖鸟巢的寻找。通过跟随衔着巢材的个体确定鸟巢所在的方位，或者直接在鸟类可能筑巢的植物中寻找(Martin & Geupel,1993)。寻找繁殖鸟巢需要大量人力和时间 (DeSante & Geupel，1987)，而鸟类的繁殖期有限。为在短时间内找到尽可能多的鸟巢，4～5 人同时参与寻找鸟巢，3 人测量各参数和回访鸟巢，并使用 GPS 定位，以便复查时的快速准确回访。

鸟巢定位完成后，记录初次观察到的繁殖状态，并记录巢所在树种、位置、距离地面高度及所在树的高度等。每隔 1 d 回访一次。由于鸟巢所处位置较高，不能直接观察，所以需要将伸缩杆与无

线摄像头相连接，通过无线接收器来观察巢内情况。若亲鸟正在巢中孵化则需待亲鸟离巢后再进行观察，以免影响其正常繁殖。每次回访需确认繁殖状态，包括卵失踪、幼鸟失踪或死亡等，并估计可能的事故原因，最后计算繁殖成功率。其中，孵化率=孵出总个体数/总产卵数，离巢率=离巢总个体数/孵出总个体数，繁殖成功率=离巢总个体数/总产卵数。在产卵结束的 3 d 内，测量全部卵重量及长、短径。其中 10 个巢中安装小型测温仪 (L9 系列测温仪，杭州路格科技有限公司)，整个孵化期持续每间隔 1 min 记录一次巢内、外温度，并由此推测亲鸟孵卵时间和离巢次数。当幼鸟陆续出壳时，判定为孵化期结束，育雏期开始。在 13 个繁殖巢的上方 10～15 cm 安装小型摄像头，摄像时间为 6:00—18:00；每隔 2 d 录像一次每巢亲鸟的育雏行为、食物种类，以及最后离巢的雏鸟个体数。

1.3　巢材分析

繁殖结束后，将巢取下并带回室内测量巢高、巢深、巢外长径、巢外短径、巢内长径、巢内短径、巢底厚和巢容积 (Soler et al,1998，图 1)等。为避免因天气状况及采集时间不同造成的巢重量差异，在测巢重之前，统一将巢全部浸湿，再用烘箱处理相同时间。拆解时先将巢拆分为外、中、内三层，然后对每一层再彻底拆分和归类。巢材类别根据辨识程度尽可能细分，对每一类分别称重并分析巢材组成及比例。

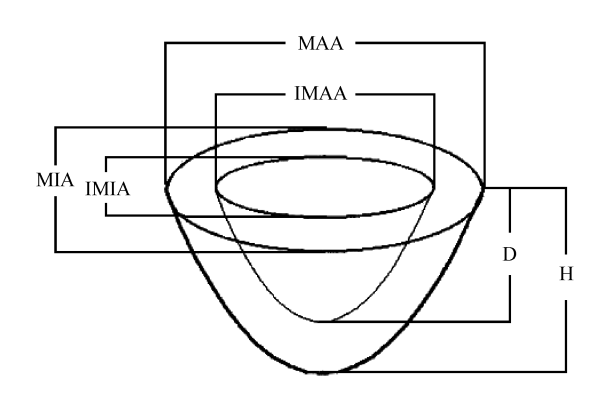


图 1 巢量度的测量指标 (根据 Soler et al, 1998 修改)
Figure 1 Definition of nest measurements
(Modified according to Soler et al, 1998).

H: 巢高 (height); D: 巢深 (depth); MAA: 巢外长径 (major axis); MIA: 巢外短径 (minor axis); IMAA: 巢内长径 (inner-major axis); IMIA: 巢内短径 (inner-minor axis); BT: 巢底厚 (bottom thickness= height-depth).

2　结　果

本研究共记录到白头鹎有效繁殖鸟巢 117 个。个体衔巢材首见于 3 月 25 日；31 巢产第一枚卵的时间集中在 4 月 11—25 日，占总巢数的 83.8% (n=37)；第一枚卵的最早及最迟产记录时间分别为 4 月 5 日及 5 月 16 日 (图 2)。

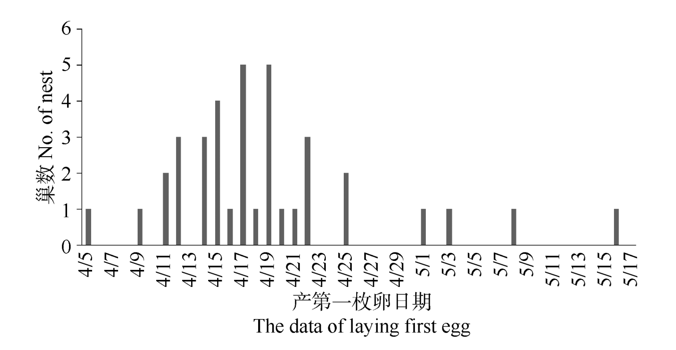


图 2　杭州白头鹎产第一枚卵的时间
Figure 2　Date of first egg laying among Chinese Bulbul in Hangzhou, China.

2.1　巢址选择

白头鹎主要营巢区域为居民区的绿化树、城区绿化带、行道树及近郊林地等。营巢植物选择较单一，绝大多数巢搭建于盖度良好的木本植物。共调查到营巢植物 11 种，其中利用度最高的为桂树 (*Osmanthus fragrans*)，共 99 巢， 占总巢数的 84.6%；其他包括竹子 (*Bambusoideae* sp.)及石楠 (*Photinia serrulata*)各 5 巢，珊瑚树 (*Viburnum odoratissimum*) 2 巢，杜英 (*Elaeocarpus sylvestris)*、鸡爪槭 (*Acer palmatum thunb*) 、海桐 (*Pittosporum tobira*) 、红枫 (*Acer palmatum*) 、木槿 (*Hibiscus syriacus*)、樱花 (*Prunus serrulata*) 和香泡(*Citrus medica*) 各 1 巢。白头鹎偏好在靠近植物冠层的树杈上做巢，繁殖巢距地面均高 (3.16±0.91) m (n=117)，营巢树均高 (3.83±1.03) m (n=117)。

2.2　巢量度

白头鹎的巢为开口杯状巢。巢外长径为 (12.06± 0.90) cm，巢外短径 (10.81±1.02) cm，巢内长径 (7.57±0.68) cm，巢内短径 (6.60±0.58) cm，巢高 (10.96±1.97) cm，巢深 (4.77±0.63) cm，巢底厚 (6.18±1.83) cm，巢容积 (127.35±22.37) mL(n=73)。巢干重 (22.61±7.60) g (57.24～10.71)g，巢可明显分为外、中、内三层，均重分别为(10.21±4.05) 、(10.22±4.83) 及(2.21±1.03) g (n=73)。

2.3　巢材

白头鹎巢的巢材组成复杂多样，可分为天然巢材和非天然巢材。天然巢材包括草茎、草根、树叶、

竹叶、芦苇叶、松针、棕榈丝、花序、树皮、树枝、种皮及羽毛等。非天然巢材包括塑料绳、塑料条、塑料片、棉花、棉线、布条、尼龙绳、石棉瓦内层、纸、塑料泡沫及锡纸等。

95.9%的巢外、中层均含有非天然巢材，其中，中层非天然巢材重占中层重的 18.4%，外层非天然巢材重占外层重的 30.1%。内层与中、外层的巢材组成有明显差别，不同巢之间则相对比较统一，主要由细草茎、细草根及棕榈丝等天然巢材构成，仅 8.2%的巢内层含有少量非天然巢材。

2.4　窝卵数和卵量度

白头鹎一般 1 d 产一枚卵，产卵时间为凌晨。117 巢中，有 65 (55.6%)巢产卵三枚，38 (32.5%)巢产卵四枚，另外，8 巢弃巢中有一或两枚卵，其余 6 巢无法判定窝卵数。平均窝卵数为 (3.37±0.48) 枚 (*n*=103)，卵均重(3.14±0.30) g，每窝卵总重 (10.18±2.37) g，卵长径 (21.50±3.93) mm，卵短径 (16.04±2.86) mm (*n*=34)。

2.5　孵化期

最后一枚卵产下后进入孵化期，并由雌鸟独立完成孵化，无两只亲鸟轮换孵卵的行为。平均孵化期为(11.34±1.12) d (14～8 d), (*n*=32)。

巢温每天存在规律性波动，最高温(36.9 ℃) 出现在 13:00—16:00，最低温(16.2 ℃)出现在 04:00—07:00。一天中，白头鹎的孵卵可以分为两个时期：连续孵卵期和间断孵卵期。连续孵卵期主要是在温度较低的时段，开始于 16:00—19:00，持续至第二天凌晨 05:00—8:00，且不同巢的连续孵卵时间差别较大。在间断孵化期，亲鸟会间歇性离巢 12～36 次不等，且无固定次数和频率。

2.6　育雏期

雏鸟孵出后，由双亲共同参与育雏。平均育雏期为(11.85±1.12) d (14~8 d) (*n*=47)。雏鸟孵出后的前 3 d，暖雏行为频繁，仅由雌鸟完成；随着雏鸟生长，暖雏次数和时长逐渐减少，且亲鸟回巢递食或暖雏的路径无规律。

于 06:00—18:00 对 13 巢白头鹎进行的录像共得到 35 d 的录像数据。以 1 h 为一时段，在 12 个时段中，递食率最低的为 06:00—07:00，平均递食 (3.03±3.76) 次，最高的为 16:00—17:00，平均递食 (8.31±5.88) 次(图 3)。

通过录像共观察到递食 2465 次，其中 1142 次可以确定食物种类。所有递食食物可分为三大类：动物类 (66.4%，包括蝴蝶、蜘蛛、蜻蜓及苍蝇等)、植物类 (33.2%，包括桂子、桑葚、草莓及樱桃等)和人类 (0.4%，包括面包碎屑和面条等)食品 (图 4)。

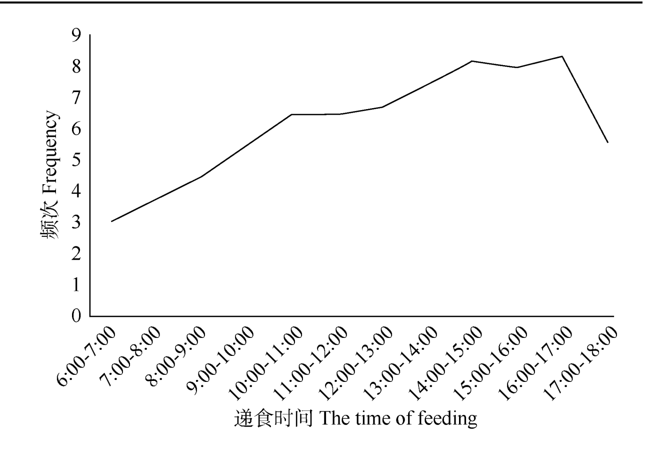


图 3　白头鹎在不同时段喂食雏鸟的频次变化
Figure 3　Average frequency of parental feeding among Chinese Bulbul in Hangzhou, China

2.7　繁殖成功率

根据对 117 巢白头鹎的跟踪，最后繁殖成功有鸟离巢的仅 54 巢 (46.6%)，其余巢均在孵化期或育雏期繁殖失败。失败原因包括卵被捕食(12.1%)、雏鸟被捕食 (12.9%)、人为干扰或破坏(6.9%)以及其他不明原因(21.6%)。全部记录的 360 枚卵中 (*n*=111)，有 246 (68.3%)个个体孵出，全部记录到孵化 261 个个体中 (*n*=117)，有 136 (52.1%)个成功离巢。去除无法确认产卵数的 6 巢外，总繁殖成功率为 34.7% (*n*=111)。

3　讨　论

3.1　繁殖时间和窝卵数

本研究于 3 月 25 日首次见到白头鹎衔巢材，说明繁殖开始，与 Chen et al (2006)在四川省南充市于 3 月 29 日首次发现白头鹎营巢的结果接近。而在自然环境中，有研究发现白头鹎 5 月初才进入筑巢期 (Liu & Long, 1986; Li, 1981)。城市环境下白头鹎开始繁殖的时间早于自然环境的现象可能与城市热岛 (urban heat island，UHI) (Manley,1958) 效应有关。热岛效应使城市环境温度较高，导致鸟类在城市栖息地能较早获得无脊椎动物食物，从而较早开始繁殖 (Eden, 1985)。

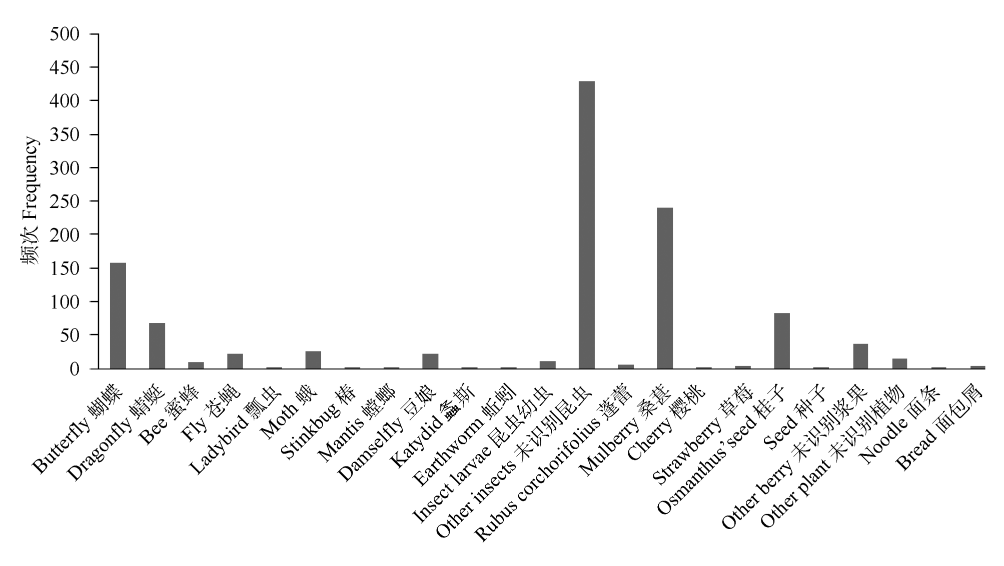


图 4　白头鹎喂食雏鸟的食物类别和频次

Figure 4　Food types and feeding frequencies for nestlings among Chinese Bulbul in Hangzhou, China

本研究中白头鹎的平均孵化期为(11.34±1.12) d (*n*=32)，平均育雏期为(11.85±1.12) d (*n*=47)，与大多数鹎类研究相似 (Krüger, 2004)，如斐济黑喉红臀鹎 (*Pycnonotus cafer*) 的孵化期为 11～13 d (*n*=3)，育雏期为 12 d (Walting, 1983)；台湾地区白头鹎 (*Pycnonotus sinensis*)的孵化期为 11～13 d (Hsu & Lin, 1994)；台湾鹎 (*Pycnonotus taivanus*) 的孵化期为 11～12 d (Hsu & Lin, 1997)。

在窝卵数方面，大多数非洲、亚洲鹎类的窝卵数为 2～3 枚 (Fishpool & Tobias, 2005)。自然环境中，白头鹎产卵数多为 4～5 枚，如，Liu & Long (1986)发现贺县狗儿山的白头鹎窝卵数为(4±0.63)枚(*n*=6)； Zhu (1991) 发现青岛崂山的白头鹎窝卵数为(4.75±0.5) 枚(*n*=4)；Li (1981) 发现皖南黄山地区的白头鹎窝卵数为(4.25±0.77) 枚(*n*=16)。而在城市环境中，四川南充市的白头鹎窝卵数为(3.5±0.5) 枚 (*n*=10) (Chen et al, 2006)，本研究的杭州市则为(3.37±0.48) 枚 (*n*=103)。城市环境中的窝卵数小于自然环境的原因有待于进一步探究。

3.2　巢址选择

合适的巢址可以帮鸟类将各种风险降到最低，而巢的隐蔽性和巢位高度则可有效防止天敌和人为干扰的侵袭 (Ricklefs, 1969; Buckley & Buckley, 1980; Martin, 1993; Gregg et al, 1994; Stahlschmidt et al, 2011)。自然环境中，白头鹎巢高 1～2 m (Zhu, 1991) 或 1.7～5 m (Li，1981)，在南充市区，白头鹎巢高 (3.84±1.74) m (Chen et al, 2006), 在杭州市区，则均高 (3.16±0.91) m (*n*=117)，且多位于桂树靠近植物冠层的位置。城市环境中白头鹎的繁殖巢位相对较高可能与城市人为干扰较大有关。桂树在杭州分布广泛，郁闭度良好，可能有利于白头鹎隐蔽和躲避捕食，是其较为理想的营巢树。

3.3　巢材分析

本研究表明，白头鹎利用塑料和布条等非天然巢材的现象非常普遍，仅 4.1%的巢不含非天然巢材，在中、外层，非天然巢材的比重甚至分别达到18.4%和 30.1%。适应城市的鸟类可通过改变巢材来适应环境 (Wang et al, 2008，2009)，如城市中的鸟类会使用烟蒂中的聚丙烯纤维作为巢材，且这种行为可以有效减少巢内的外寄生生物数量 (Suárez-Rodríguez et al, 2012)。影响巢材利用的因素可能包括种间竞争 (Atwood, 1979)、捕食 (Tomiałojć, 1982; Gering & Blair, 1999) 和巢寄生 (Burhans & Thompson, 2006; Geue & Partecke, 2008; Suárez-Rodríguez et al, 2012) 等。白头鹎一般不循环利用繁殖巢，每次繁殖均筑新巢，而城市环境下的天然巢材资源少于自然环境，因此，就近取材更节约能量，收益更高，并可保留更多能量用于繁殖后代 (Alabrudzinska et al, 2003; Mennerat et al, 2009)。此外，我们发现不同巢之间的人工巢材选择差异明显，即不同巢址的人工巢材种类差别较大，而同一个巢的外、中层所含的人工材料基本相同，

说明于不同区域筑巢的鸟类会选择该区域较易获得的巢材。因此，巢材改变很可能是白头鹎对城市化栖息地取代自然栖息地所采取的对策之一。

3.4　繁殖成功率

繁殖成功率与温度 (Madsen & Shine, 1999)、食物 (Martin, 1987，1995)、捕食 (Ricklefs, 1969; Cody, 1971; Slagsvold, 1982)及巢址选择(Jenkins et al, 1963; Rands, 1988; Robertson, 1995)等多种因素有关。一般认为，产卵期和孵化期繁殖容易失败(Mermoz & Reboreda, 1998; Balakrishnan, 2007)，我们的结果也证实了这一点。其可能原因为：(1)产卵期受到干扰，特别是在亲鸟产下 1～2 枚卵时，若受到人为或其它因素的干扰，容易弃巢；(2)孵化阶段较高的被捕食率 (Antonov & Atanasova, 2003; Balakrishnan, 2009)，如，本研究所显示的杭州城市环境下白头鹎在育雏期的高被捕食率。

致谢：浙江大学的丁平、王彦平，以及浙江自然博物馆的范忠勇、张方钢、陆祎玮、陈苍松及杨佳等为本研究提供了很多帮助，志愿者朱滕达、马亚壮、周建伟、陈超、余翔、徐文、胡明明及朱晨臣等参与野外调查，谨一并致谢。

参考文献：

Alabrudzinska J, Kalinski A, Slomczynski R, Wawrzyniak J, Zielinski P, Bańbura J. 2003. Effects of nest characteristics on breeding success of Great Tits *Parus major*. *Acta Ornithologica*, **38**(2): 151-154.

Antonov A, Dimitrinka A. 2003. Small-scale differences in the breeding ecology of urban and rural Magpies *Picapica*. *Ornis Fennica*, **80**: 21-30.

Atwood JL. 1979. Robbery of nesting materials by the Calliope Hummingbird. *Western Birds*, **10**: 43-44.

Balakrishnan P. 2007. Status, Distribution and Ecology of the Grey-Headed Bulbul *Pycnonotus priocephalus* in the Western Ghats, India. Ph. D. dissertation, Bharathiar University, Coimbatore.

Balakrishnan P. 2009. Breeding ecology and nest-site selection of Yellow-browed bulbul (*Iole indica*) in Western Ghats, India. *The Journal of the Bombay Natural History Society*, **106**(2): 176-183.

Blair RB. 1996. Land use and avian species diversity along an urban gradient. *Ecological Applications*, **6**(2): 506-519.

Brumm H. 2004. The impact of environmental noise on song amplitude in a territorial bird. *Journal of Animal Ecology*, **73**(3): 434-440.

Buckley FG, Buckley PA. 1980. Habitat selection and marine birds. *In*: Burger J, Olla BL, Winn HE. Behavior of Marine Animals. New York: Plenum Press, 69-112.

Burhans DE, Thompson FR. 2006. Songbird abundance and parasitism differ between urban and rural shrublands. *Ecological Applications*, **16**(1): 394-405.

Chen SH. 2000. Studies on Urban Bird Communities in Hangzhou. Ph. D. thesis, Beijing Normal University, Beijing. [陈水华. 2000. 杭州城市鸟类群落研究. 博士学位论文, 北京师范大学, 北京]

Chen W, Guo ZM, Hu JC, Yu ZW. 2006. Breeding Habit, Growth and Development of *Pycnonotus sinensis* in Nanchong, China. *Chinese Journal of the Zoology*, **41**(2): 107-111. [陈伟, 郭宗明, 胡锦矗, 余志伟. 2006. 四川南充市白头鹎的繁殖习性及雏鸟的生长发育. 动物学杂志, **41**(2): 107-111.]

Cody ML. 1971. Ecological aspects of reproduction. *Avian Biology*, **1**: 461-512.

Conole LE, Kirkpatrick JB. 2011. Functional and spatial differentiation of urban bird assemblages at the landscape scale. *Landscape and Urban Planning*, **100**(1-2): 11-23.

Croci S, Butet A, Clergeau P. 2008. Does urbanization filter birds on the basis of their biological traits? *The Condor*, **110**(2): 223-240.

Desante DF, Geupel GR. 1987. Landbird productivity in central coastal California: the relationship to annual rainfall and a reproductive failure in 1986. *The Condor*, **89**(3): 636-653.

Ding P, Jiang SR. 2005. Microgeographic song variation in the Chinese bulbul (*Pycnonotus sinensis*) in Urban Areas of Hangzhou City. *Zoological Research*, **26**(5): 453-459. [丁平, 姜仕仁. 2005. 杭州市区白头鹎鸣声的微地理差异. 动物学研究, **26**(5): 453-459.]

Du TK, Ma JF. 2011. Four new records of birds in Ningxia. *Journal of Agricultural Sciences*, **32**(2): 95-96. [杜天奎, 马金峰. 2011. 宁夏鸟类 4 种新纪录. 农业科学研究, **32**(2): 95-96.]

Eden SF. 1985. The comparative breeding biology of magpies *Pica pica* in an urban and a rural habitat (Aves: Corvidae). *Journal of Zoology*, **205**(3): 325-334.

Fishpool LDC, Tobias JA. 2005. Family Pycnonotidae (bulbuls). In: del Hoyo J, Eliott A, Christie DA. Handbook of the Birds of the World. Vol. 10. Lynx Editions, Barcelona. 124-253.

Fleischer AL, Bowman R, Woolfenden GE. 2003. Variation in foraging behavior, diet, and time of breeding of Florida scrub-jays in suburban and wildland habitats. *The Condor*, **105**(3): 515-527.

Gering JC, Blair RB. 1999. Predation on artificial bird nests along an urban gradient: predatory risk or relaxation in urban environments? *Ecography*, **22**(5): 532-541.

Germaine SS, Wakeling BF. 2001. Lizard species distributions and habitat occupation along an urban gradient in Tucson, Arizona, USA. *Biological Conservation*, **97**(2): 229-237.

Geue D, Partecke J. 2008. Reduced parasite infestation in urban Eurasian blackbirds (*Turdus merula*): a factor favor-ing urbanization? *Canadian Journal of Zoology*, **86**(12): 1419-1425.

Gregg MA, Crawford JA, Drut MS, DeLong AK. 1994. Vegetational cover and predation of Sage Grouse nests in Oregon. *The Journal of Wildlife Management*, **58**(1): 162-166.

Han FR, Zhou TL. 2005. A research into the propagation ecology of *Carduelis sinica* and *Pycnonotus sinenis*. *Journal of Longdong University (Natural Science Edition)*, **15**(2): 42-45. [韩芬茹, 周天林. 2005. 金翅和白头鹎的繁殖生态研究. 陇东学院学报(自然科学版), **15**(2): 42-45.]

Han YC, Jiang SR, Ding P. 2004. Effects of ambient noise on the vocal frequency of Chinese bulbuls, *Pycnonotus sinensis* in Lin'an and Fuyang City. *Zoological Research*, **25**(2): 122-126. [韩轶才, 姜仕仁, 丁平. 2004. 环境噪声对临安和阜阳两地白头鹎鸣声频率的影响. 动物学研究, **25**(2): 122-126.]

Hoyo JD, Elliott A, Christie DA. 2005. Handbook of the Birds of the World. Vol. 10. Lynx Edicions, Barcelona. 178.

Hsu MJ, Lin YS. 1994. The annual cycle of the Chinese Bulbul *Pycnonotus sinensis formosae* in Taiwan. *Acta Zoologica Taiwanica*, **5**: 33-39.

Hsu MJ, Lin YS. 1997. Breeding ecology of Styan's Bulbul *Pycnonotus taivanus* in Taiwan. *Ibis*, **139**(3): 518-522.

Jenkins D, Watson A, Miller GR. 1963. Population studies on Red Grouse *Lagopus lagopus scoticus* (Lath) in north-east Scotland. *The Journal of Animal Ecology*, **32**(3): 317-376.

Jiang SR, Ding P, Zhuge Y. 1994. The comparative studies on the characteristics of Chinese Bulbul songs between Shensi Island and Hangzhou Aera. *Zoological Research*, **15**(3): 19-27. [姜仕仁, 丁平, 诸葛阳. 1994. 嵊泗岛和杭州地区白头鹎鸣声特征比较研究. 动物学研究, **15**(3): 19-27.]

Jiang SR, Ding P, Shi QS, Zhuge Y. 1996. Studies on the song dialects in Chinese Bulbuls. *Acta Zoologica Sinica*, **42**(4): 361-367. [姜仕仁, 丁平, 施青松, 诸葛阳. 1996. 白头鹎方言的初步研究. 动物学报, **42**(4): 361-367.]

Krüger O. 2004. Breeding biology of the Cape Bulbul *Pycnonotus capensis*: a 40-year comparison. *Ostrich*, **75**(4): 211-216.

Li BH. 1981. Preliminary observation of breeding habits of Chinese Bulbul. *Chinese Journal of Zoology*, (1): 36-39. [李炳华. 1981. 白头鹎繁殖习性的初步观察. 动物学杂志, (1): 36-39.]

Li DM, Wang AZ, Lei FM. 2006. New records of Chinese Bulbul in Qinghai Province. *Chinese Journal of Zoology*, **41**(4): 70. [李东明, 王爱真, 雷富民. 2006. 青海省鸟类新纪录—白头鹎. 动物学杂志, **41**(4): 70.]

Liker A, Papp Z, Bkony V, Lendvai Z. 2008. Lean birds in the city: body size and condition of house sparrows along the urbanization gradient. *Animal Ecology*, **77**(4): 789-795.

Liu XH, Long GZ. 1986. Preliminary observation of breeding habits of Chinese Bulbul. *Chinese Journal of Zoology*, **6**(5): 12-15. [刘小华, 龙国珍. 1986. 白头鹎繁殖习性的初步观察. 动物学杂志, **6**(5): 12-15.]

MacKinnon J, Phillipps K. 1999. A Field Guide to the Birds of China. Oxford: Oxford University Press.

Madsen T, Shine R. 1999. Life history consequences of nest-site variation in tropical pythons. *Ecology*, **80**(3): 989-997.

Mahan CG, O'Connell TJ. 2005. Small mammal use of suburban and urban parks in central Pennsylvania. *Northeastern Naturalist*, **12**(3): 307-314.

Manley G. 1958. On the frequency of snowfall in metropolitan England. *Quarterly Journal of Royal Meteorological Society*, **84**(359): 70-72.

Martin TE. 1987. Food as a limit on breeding birds: a life-history perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 453-487.

Martin TE. 1993. Nest predation and nest sites. *Bioscience*, **43**(8): 523-532.

Martin TE. 1995. Avian life history evolution in relation to nest sites, nest predation, and food. *Ecological Monographs*, 65(1): 101-127.

Martin TE, Geupel GR. 1993. Nest-monitoring plots: Methods for locating nests and monitoring success. *Journal of Field Ornithology*, **64**(4): 507-519.

Marzluff JM, Rodewald AD. 2008. Conserving biodiversity in urbanizing areas: nontraditional views from a bird's perspective. *Cities and the Environment*, **1**(2): 1-27.

Melles S, Glenn S, MaArtin K. 2003. Urban bird diversity and landscape complexity: species-environment associations along a multiscale habitat gradient. *Conservation Ecology*, **7**(1): 5.

Mennerat A, Perret P, Bourgault P, Blondel J, Gimenez O, Thomas DW, Heeb P, Lambrechts MM. 2009. Aromatic plants in nests of blue tits: positive effects on nestlings. *Animal Behaviour*, **77**(3): 569-574.

Mermoz ME, Reboreda JC. 1998. Nesting success in Brown and yellow Marshbirds: effects of timing, nest site, and brood parasitism. *The Auk*, **115**(4): 871-878.

Nemeth E, Brumm H. 2009. Blackbirds sing higher pitched songs in cities: adaptation to habitat acoustics or side-effect of urbanization? *Animal Behaviour*, **78**(3): 637-641.

Nemeth E, Pieretti N, Zollinger SA, Geberzahn N, Partecke J, Miranda AC, Brumm H. 2013. Bird song and anthropogenic noise: vocal constraints may explain why birds sing higher-frequency songs in cities. *Proceedings the Royal of Society Biological*, **280**(1754): 2012-2798.

Parris KM. 2006. Urban amphibian assemblages as metacommunities. *Journal of Animal Ecology*, **75**(3): 757-764.

Rands MRW. 1988. The effect of nest site selection on nest predation in Grey Partridge (*Perdix perdix*) and Red-legged Partridge (*Alectoris rufa*). *Ornis Scandinavica*, 19(1): 35-40.

Ricklefs RE. 1969. An analysis of nesting mortality in birds. *Smithsonian Contributions to Zoology*, (9): 1-48.

Riley SPD, Busteed GT, Kats LB, Vandergon TL, Lee LFS, Dagit RG, Kerby JL, Fisher RN, Sauvajot RM. 2005. Effects of urbanization on the distribution and abundance of amphibians and invasive species in southern California streams. *Conservation Biology*, **19**(6): 1894-1907.

Robertson GJ. 1995. Factors affecting nest site selection and nesting success in the Common Eider *Somateria mollissima*. *Ibis*, **137**(1): 109-115.

Slabbekoorn H, Peet M. 2003. Birds sing at a higher pitch in urban noise-Great tits hit the high notes to ensure that their mating calls are heard above the city's din. *Nature*, **424**: 267.

Slagsvold T. 1982. Clutch size, nest size, and hatching asynchrony in birds: Experiments with the fieldfare (*Turdus pilaris*). *Ecology*, **63**(5): 1389-1399.

Soler JJ, Moller AP, Soler M. 1998. Nest building, sexual selection and parental investment. *Evolutionary Ecology*, **12**(4): 427-441.

Song ZM. 2006. New records of Chinese Bulbul in Dongbei. *Journal of Mudanjiang Teachers' College (Natural Sciences Edition)*, **12**(4): 1-2. [宋泽民. 2006. 东北鸟类新纪录—白头鹎. 牡丹江师范学院学报(自然科学版), **12**(4): 1-2.]

Stahlschmidt ZR, Brashears J, DeNardo DF. 2011. The role of temperature and humidity in python nest site selection. *Animal Behaviour*, **81**(5): 1077-1081.

Suárez-Rodríguez M, López-Rull I, Garcia CM. 2012. Incorporation of cigarette butts into nests reduces nest ectoparasite load in urban birds: new ingredients for an old recipe. *Biology Letters*, 9(1): 20120931.

Tomiałojć L. 1982. Synurbanization of birds and prey-predators relations. *In*: Luniak M, Pisarski B. Animals in Urban Environments. Ossolineum, Warszawa: 131-137.

Walting D. 1983. The breeding biology of the Red-vented Bulbul *Pycnonotus cafer* in Fiji. *Emu*, **83**(3): 173-180.

Wang XP, Du M, Sun LX, Li JL. 2005. New distribution of Chinese Bulbul (*Pycnonotus sinensis*) in Lüshun of Dalian, China. *Zoological Research*, **26**(1): 95. [王小平, 杜敏, 孙立新, 李建立. 2005. 大连旅顺老铁山发现白头鹎. 动物学研究, **26**(1): 95.]

Wang YP, Chen SH, Jiang PP, Ding P. 2008. Black-billed Magpies (*Pica pica*) adjust nest characteristics to adapt to urbanization in Hangzhou, China. *Canadian Journal of Zoology*, **86**(7): 676-684.

Wang YP, Chen SH, Blair RB, Jiang PP, Ding P. 2009. Nest composition adjustments by Chinese Bulbuls *Pycnonotus sinensis* in an urbanized landscape of Hangzhou (E China). *Acta Ornithologica*, **44**(2): 185-192.

Williams JB, Tieleman BI. 2000. Flexibility in basal metabolic rate and evaporative water loss among hoopoe larks exposed to different environmental temperatures. *The Journal of Experimental Biology*, **203**(20): 3153-3159.

Wood WE, Yezrinac SM. 2006. Song sparrow (*Melospiza melodia*) song varies with urban noise. *Auk*, **123**(3): 650-659.

Woxvold IA, Duckworth JW, Timmins RJ. 2009. An unusual new bulbul (Passeriformes: Pycnonotidae) from the limestone karst of Lao PDR. *Forktail*, **25**: 1-12.

Yang XJ, Lei FM. 2008. Song structure and its microgeographic variation of the Chinese bulbul *Pycnonotus sinensis*. *Acta Zoologica Sinica*, **54**(4): 630-639. [杨晓菁, 雷富民. 2008. 白头鹎的鸣唱结构及其鸣唱微地理变异. 动物学报, **54**(4): 630-639.]

Yu TL, Fu JR, Guo YS. 2011. Analysis of population growth of light-vented bulbul (*Pycnonotus sinensis*) in Nanchong area. *Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition)*, **24**(4): 495-498. [于同雷, 符建荣, 郭延蜀. 2011. 四川南充地区白头鹎种群数量增长原因分析. 信阳师范学院学报(自然科学版), **24**(4): 495-498.]

Zhang B. 2010. The new record of residence date of Birds in Hebei Province. *Journal of Hebei Normal University of Science & Technology*, **24**(2): 64-66. [张波. 2010. 河北鸟类居留期新记录. 河北科技师范学院学报, **24**(2): 64-66.]

Zhang GK, Fang YY, Jiang XH, Liu JS, Zhang YP. 2008. Adaptive Plasticity in Metabolic Rate and Organ Masses among *Pycnonotus sinensis*, in Seasonal Acclimatization. *Chinese Journal of Zoology*, **43**(4): 13-19. [张国凯, 方媛媛, 姜雪华, 柳劲松, 张永普. 2008. 白头鹎的代谢率与器官重量在季节驯化中的可塑性变化. 动物学杂志, **43**(4): 13-19.]

Zhang ZW, Bi ZL, Wang N, Song J. 2003. Two new records of birds found in Beijing. *Journal of Beijing Normal University*：*Natural Science*, **39**(4): 541-543. [张正旺, 毕中霖, 王宁, 宋杰. 2003. 北京 2 种鸟类的新分布记录. 北京师范大学学报(自然科学版), **39**(4): 541-543.]

Zhu XE. 1991. Breeding habit of Chinese Bulbul. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, (1): 16-17. [朱献恩. 1991. 白头鹎的繁殖习性. 山东林业科技, (1): 16-17.]

Zhuge Y, Gu HQ, Cai CM. 1990. Fauna of Zhejiang: Aves. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House. [诸葛阳，顾辉清，蔡春抹. 1990. 浙江动物志:鸟类. 杭州: 浙江科技出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 190−195 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0190

斑马鱼对无氧运动训练的适应性变化

刘明镜[1]，王志坚[2,*]

1. 重庆医科大学 附属儿童医院，认知发育与学习记忆障碍转化医学重庆市市级重点实验室，重庆 400014；
2. 西南大学 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室，水产科学重庆市市级重点实验室，生命科学学院，重庆 400715

摘要：该研究以斑马鱼为 (*Danio rerio*)对象，研究了四周无氧运动训练对斑马鱼行为、形态、生长、肌肉生化组分及代谢酶活性的影响。旨在探索斑马鱼对无氧运动训练的适应性变化，为进一步了解鱼类适应无氧运动训练的分子机制提供基础数据。结果发现：斑马鱼的日常活跃程度经四周无氧运动训练后显著降低，群聚程度增加；训练组个体体重和体长增长减缓，更利于运动；肌糖原含量显著增加，运动持久能力加强；肌肉乳酸脱氢酶 (LDH) 活性显著增高，柠檬酸合成酶 (CS) 活性显著降低，无氧代谢能力加强。即，斑马鱼无氧运动能力和无氧代谢能力在训练后得以明显提升。

关键词：无氧运动训练；斑马鱼；形态；酶；适应
中图分类号：Q955；Q959.468 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0190-06

Adaptive changes of Zebrafish (*Danio rerio*) to anaerobic exercise training

Ming-jing LIU [1], Zhi-jian WANG [2,*]

1. *Chongqing Key Laboratory of Translational Medical Research in Cognitive Development and Learning and Memory Disorders, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing* 400014, *China*;

2. *Key Laboratory of Fresh Water Fish Reproduction and Development, Education of Ministry, Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Science, Southwest University, Chongqing* 400715, *China*

Abstract: To explore adaptive changes of the Zebrafish (*Danio rerio*) to anaerobic exercise training as well as to collect basic data of molecular mechanisms of adaption to anaerobic exercise training among this fish, we investigated the influences of 4 weeks of anaerobic exercise training on the behavior, morphology, growth, muscle biochemical components and metabolic enzyme activities of the Zebrafish. Our results indicated that individual's daily activity level declined after 4 weeks training and they preferred to swim together more frequently. Both body length and weight gain decreased, allowing the fish to adapt to the increased locomotion. Similarly, glycogen in muscles increased and exercise endurance also strengthened due to the enhancement of energy storage. Moreover, although the activity of lactate dehydrogenase (LDH) in muscle has increased, the activity of citrate synthase (CS) decreased. Taken together, these results suggest that both the ability of anaerobic exercise and anaerobic metabolism of Zebrafish can in fact be enhanced by training, and the tangible changes that we could measure were retained, but only for a limited time.

Keywords: Anaerobic exercise training; Zebrafish (*Danio rerio*); Morphology; Enzyme; Adaption

运动训练从代谢角度可分为有氧运动训练和无氧运动训练，而鱼类有许多优点可以作为研究运动生理和运动训练对肌肉可塑性的极佳模型(McClelland, 2012)。持续有氧游泳运动训练可以影响鱼类的生长率和食物转化效率、改善鱼类肉质(Davison, 1997; Palstra & Planas, 2011; Song et al，2012)、增加最大耗氧量 (Gallaugher et al, 2001)、促进红肌的肥大增粗 (Johnston & Moon, 1980b)、影响

收稿日期：2013-03-06；接受日期：2013-04-30
基金项目：重庆市科委重点实验室专项经费；重庆市自然科学基金项目(cstc2011jjA80012)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: wangzj1969@126.com, wangzj@swu.edu.cn
第一作者简介：刘明镜 (1984−)，男，汉族，重庆人，硕士，研究助理，研究方向：鱼类生理学。E-mail:passion22@163.com

鱼类形态学参数 (Davison, 1997；Yan et al, 2011)、提高肌糖原和代谢酶活性(Johnston & Moon, 1980a)、增加肌肉毛细血管数量和线粒体密度(Pelster et al, 2003) 以及增强鱼类游泳能力和相关代谢能力等 (Davison, 1997；McClelland, 2012)。

无氧运动训练可显著降低虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、南方鲇 (*Silurus meridionalis*)和瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)的生长率 (Fu et al, 2007; Gamperl et al, 1988; Hernandez et al, 2002; Liu et al, 2009)；降低瓦氏黄颡鱼的脂含量，增加其临界游泳速度 U_{crit} (Liu et al，2009)；提升虹鳟加速能力(Gamperl et al, 1991; Pearson et al, 1990)，降低其在无氧运动后的乳酸、葡萄糖及血浆可的松等的浓度扰动 (Hernandez et al, 2002)，同时加强其运动后代谢恢复 (Pearson et al, 1990)；提升南方鲇及瓦氏黄颡鱼的静止耗氧率，并加快其运动后的过量耗氧(EPOC) 恢复 (Cao & Fu，2009；Liu et al, 2009)。

鱼类运动生理相关研究对小型鱼类以及热带鱼类关注极少 (Kieffer, 2010)，本研究于行为、形态、生化组成及鱼类能量相关代谢酶水平探索小型热带鱼类——斑马鱼 (*Danio rerio*)四周无氧运动训练后的适应性变化，旨在揭示鱼类适应无氧运动训练的生理生化特征，为其分子机制研究提供基础数据。

1　材料和方法

1.1　实验对象

成年斑马鱼购于北碚观赏鱼市场，随机选取身体健康、无外伤个体。鱼池 (100 cm×50 cm×33 cm)实际水容量 100 L，充气泵持续不间断充入空气，每日换水量为 50%，并清除残饵和粪便。每天饱食投喂水蚯蚓两次，光照为 12 D:12 L，水温 (28±1) ℃。实验前饲养 7 d 以适应实验室环境。

1.2　实验设计

斑马鱼个体饥饿处理 3 d 后，测量体长和体重，随机分为对照组 (n=62)及训练组 (n=62)。对照组以 1.1 所述方法饲养四周。训练组参考 Wood (1991)的方法给予运动训练，并使用钝物连续驱赶个体，促使其作爆发式无氧运动。使用容器为直径 67 cm 的圆形盆，使用水容量为 20 L。四周的训练时间内，每天上午的训练量持续不变，即 3 min 一次；从第 2 周开始，每天增加下午训练 1 次，每周增加 1 min。即第 2、3、4 周的下午训练时间分别为 1、2、3 min。实验过程中，每天观察个体游泳行为。第 4 周后，对照组及训练组饥饿 3 d 后测量体长和体重，于静止水平下分别取 8 尾用于肌糖原分析，剩余个体取材用于酶活性、蛋白及水分含量分析。

1.3　取材和样品处理

1.3.1　取材

除静止水平取材个体使用 0.4 g/L 的 MS-222 麻醉后处死外，其余个体用手指弹击头部致死，去除头部、皮肤、尾及内脏等，肌肉快速放入液氮并于 −80 ℃保存。

1.3.2　样品处理

所有肌肉样品 (红、白肌混合样品)在液氮下研磨成粉状并由天平(AR2140，精确至 0.0001g，Ohaus，美国)称重。粉末状样品处理过程若无特殊说明均在冰上进行。在样品中加入 3 倍重量碱液(试剂盒购自南京建成) 沸水浴 20 min，然后加入 16 倍样品重量的蒸馏水将样品稀释成 20 倍糖原检测液，以备糖原分析。将粉末状样品置于 400 µL 抽提液 (试剂盒购自上海杰美基因) 中，冰上孵育 36 min 后每 12 min 使用漩涡震荡仪震荡 30 s，提取粗酶液。用于柠檬酸合成酶 (CS)和细胞色素 C 氧化酶分析的粗酶液在冰上孵育后，离心 5 次(35000 r/min，每次持续 20 s，间隔 30 s)(Fluko，上海)，所得高速匀浆离心 10 min (4 ℃，16000 r/min)，上清液用于总蛋白含量和各种酶活性分析。

1.4　实验分析及数据处理

糖原(蒽酮显色法)及总蛋白含量 (改进 Bradford 法)分析试剂盒购于南京建成，已糖激酶(HK)、磷酸果糖激酶 (PFK)、丙酮酸激酶 (PK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、柠檬酸合成酶 (CS)及细胞色素 C 氧化酶 (COX)活性分析试剂盒购于上海杰美基因。糖原由分光光度计 (岛津，日本)测定、酶活性在 28 ℃下由酶标仪(Thermo Multiskan Spectrum，芬兰) 测定、蛋白含量由酶标仪上测定。具体步骤和方法参照试剂盒说明书。

将 1.3.2 处理所得肌肉粉末加入干燥离心管中称重得到肌肉湿重，然后置于 80 ℃烘箱烘至恒重后称量得到干重，水分含量=(湿重−干重)/湿重。

根据 1.2 中所得的体长和体重数据计算绝对生长率及肥满度 k 值 (k>1.4：个体处于极好营养状况(McClelland et al, 2006))。

$$\text{体长绝对生长率(cm/week)}=[\text{训练前体长均值(cm)}-\text{训练后体长均值(cm)}]/4\ \text{(week)} \quad (1)$$

体重绝对生长率(g/week)=[训练前体重均值(g)−训练后体重均值(g)] /4 (week) (2)

肥满度($g\cdot cm^{-3}$) k 值=[体重(g)/体长^3(cm)]×100 (3)

所有实验数据使用 Excel 2003 和 SPSS 13.0 处理，以 mean±SE 呈现，使用 t-检验和单因素方差分析 (LSD) 显著性，显著性水平为 P<0.05。

2 结 果

2.1 游泳行为

对照组和训练组斑马鱼在分别经历 4 周饲养和无氧运动训练后，个体数量分别由 62 降至 57 及 55，死亡率分别为 8.1%和 11.3%。训练组在每次 3 min 训练过程中，初始 1 min 游动迅速，呈爆发式游动，之后 2 min 游动速度显著下降，但仍可作爆发式游动，在训练结束时无明显力竭现象。在 4 周的训练过程中，训练组在鱼缸中饲养时集群程度较对照组高，更喜集群游动，同时，游动活跃程度低于对照组。

2.2 形态与生长

4 周后对照组斑马鱼体长及体重显著增加(P<0.05)，绝对生长率分别为 0.0325 cm/week 和 0.0325 g/week。训练组体长及体重无显著增加(P>0.05)，且体长绝对生长率为 0.0075 cm/week，仅为对照组的 23.07%，体重呈负增长。4 周后对照组肥满度显著增 (P<0.05)，训练组则显著下降(P<0.05)(仍处在极好营养状况下(k=1.70>1.4))(表 1)。

表 1 无氧运动训练对斑马鱼体长、体重和肥满度的影响
Table 1 Effect of anaerobic exercise training on body length, weight and condition factor of Zebrafish

组别 Group	个体数量 n	体长 Length (cm)	体重 Weight (g)	肥满度 Condition factor, k
对照组 4 周前 Pre-control	62	3.23±0.02	0.58±0.02	1.70±0.03
对照组 Control	57	3.36±0.03*	0.71±0.02*	1.84±0.04*
训练组 4 周前 Pre-trained	62	3.29±0.03	0.66±0.02	1.81±0.03
训练组 Trained	55	3.32±0.02	0.64±0.02	1.70±0.02*

*P<0.05。

2.3 肌肉组分

四周无氧运动训练显著增加成年斑马鱼肌肉糖原含量 (P<0.05)，对照组肌肉糖原含量仅为训练组的 61.60%，且肌肉内总蛋白和水分含量两组间无显著差异 (P>0.05)(表 2)。

2.4 酶活性

2.4.1 糖酵解酶活性

斑马鱼肌肉糖酵解相关酶活性均在 28 ℃下测定。4 周训练后，己糖激酶 (HK)、磷酸果糖激酶(PFK)及丙酮酸激酶 (PK)在对照组和训练组间无显著性差异 (P>0.05)，而训练组乳酸脱氢酶(LDH)活性提高 38.07%，显著高于对照组(P<0.05)(表 3)。

表 2 无氧运动训练对斑马鱼肌肉水分、蛋白和糖原含量的影响
Table 2 Effect of anaerobic exercise training on moisture, protein and glycogen in Zebrafish muscle

组别 Group	水分 (n=10) Moisture (%)	总蛋白 (n=10) Protein (mg/g wet wt)	糖原 (n=8) Glycogen (μmol/g wet wt)
对照组 Control	79.39±0.54	28.13±4.37	13.12±1.24
训练组 Trained	78.61±0.38	25.90±2.29	21.30±1.52*

*P<0.05。

表 3 斑马鱼肌肉糖酵解酶活性
Table 3 Skeletal muscle enzyme activities for glycolysis of Zebrafish

组别 Group	己糖激酶 HK (U/g wet wt)	磷酸果糖激酶 PFK (U/g wet wt)	丙酮酸激酶 PK(U/g wet wt)	乳酸脱氢酶 LDH (U/g wet wt)
对照组 Control	1.86±0.35	12.66±0.86	43.85±5.03	81.25±9.13
训练组 Trained	2.30±0.36	11.64±0.90	36.18±2.30	112.18±9.57*

除 LDH 对照组 n=9 外，所有组 n=10。

All groups n=10 except LDH control n=9, U: μmol/min; *P<0.05.

2.4.2 线粒体酶活性

4 周训练后，在 28 ℃下训练组斑马鱼肌肉线粒体标志酶柠檬酸合成酶 (CS)活性显著降低(P<0.05)，仅为对照组的 33.71%，而细胞色素 C 氧化酶 (COX)活性在两组间无显著性差异(P>0.05)(表 4)。

表 4 斑马鱼肌肉线粒体酶活性
Table 4 Skeletal muscle mitochondrion enzyme activities of Zebrafish

组别 Group	柠檬酸合成酶 CS	细胞色素 C 氧化酶 COX
对照组 Control	0.89±0.12	1.37±0.20
训练组 Trained	0.30±00.09*	1.00±0.22

除 COX 对照组 n=9 外，所有组 n=10。

All groups n=10 except COX control n=9, U: μmol/min; *P<0.05.

3 讨　论

3.1　无氧运动训练对斑马鱼死亡率和游泳行为的影响

斑马鱼有氧运动训练后训练组死亡率 (30%)高于对照组 (15%)(McClelland et al, 2006)。本研究数据表明训练组死亡率略高于对照组，提示相对较长时的有氧运动训练，短时的无氧运动训练对鱼类的胁迫性可能较低。

许多研究表明鲑、鳟鱼类在饲养时个体之间存在等级差异 (Davison, 1997)，尤其在静水中饲养时，鱼类个体攻击性变强，等级度明显增加，从而导致处于低等级地位的个体获取食物变少 (Adam et al, 1995)，而运动训练可显著降低个体攻击性(Davison, 1997)。本研究对照组出现个体被攻击致死的现象，而训练组个体的活跃程度明显低于对照组，说明训练降低其侵略性。经过训练的个体更喜集群游动，提示无氧运动训练后的运动性疲劳等原因，使得斑马鱼侵略性降低。同时，由于该运动方式所包含的个体被强迫运动和“被捕食”的双重胁迫，可能会促使斑马鱼个体聚集游动。目前关于运动训练所带来的鱼类行为改变还未开展广泛研究，尤其是无氧运动对鱼类个体在生态和行为的效应研究匮乏，未来需要使用更有效的观察和统计方法研究鱼类游泳行为。

3.2　无氧运动训练对斑马鱼形态生长和肌肉组分的影响

无氧运动训练使得虹鳟食物消耗率、利用率、生长率及肥满度等均显著下降 (Gamperl et al, 1988；Hernandez et al, 2002)，南方鲇及瓦氏黄颡鱼生长减缓（Fu et al，2007；Liu et al, 2009)。本研究表明无氧运动训练极大限制了成年斑马鱼个体生长。说明无氧运动训练对于不同种类和生态习性的鱼类具有较强的形态塑造性和一定程度上的生长抑制性，但不同鱼类对不同的训练强度和时长反应各异。

研究表明训练对虹鳟的蛋白、脂和含水量百分比无影响(Gamperl et al,1988；Hernandez et al, 2002)，而瓦氏黄颡鱼的脂含量在力竭性无氧运动训练后显著降低 (Liu et al, 2009)。本研究表明无氧运动训练后斑马鱼肌糖原含量水平显著升高，说明训练促使肌肉对能源物质需求增加进而产生适应性变化，特别是糖酵解的供能物质——糖原，而蛋白和肌肉含水量无显著变化。这些研究表明，鱼类在无氧运动训练的适应过程中，对糖原的需求最大，在糖原物质无法满足时，才会动用脂、蛋白等能源物质。尤其是在繁殖洄游过程中的鱼类，脂、蛋白等为其运动过程中的重要能量来源(Guderley, 2004)。这提示由于鱼类仅能作短时间无氧运动，一般无需增加肌肉内脂类和蛋白含量以适应长时间游动。

3.3　无氧运动训练对斑马鱼肌肉主要代谢酶活性的影响

有氧运动训练可提高许多能量代谢相关酶的活性，如青鳕 (*Pollachius virens*)有氧运动训练后红、白肌肌酸激酶活性均显著增加，红肌柠檬酸合成酶 (CS) 和β-羟脂酰辅酶 A 脱氢酶活性均显著提高。即，训练可增强个体有氧氧化代谢能力(Johnston et al, 1980a)。虹鳟有氧运动训练后，其红肌和白肌内柠檬酸合成酶 (CS)及β-羟脂酰辅酶 A 脱氢酶活性均增加 (Farrell et al, 1991)。成年斑马鱼在经历 4 周有氧运动训练之后，肌肉内柠檬酸合成酶 (CS)、乳酸脱氢酶 (LDH)及细胞色素 C 氧化酶(COX)活性均显著提高 (McClelland et al, 2006)。以上有氧运动训练所导致的酶活性变化差异与鱼的种类以及具体训练方法、强度及持续时间有关。

无氧运动训练诱导的鱼类肌肉酶活性研究极少，无氧运动训练可增加虹鳟肌肉糖酵解酶活性，如磷酸果糖激酶 (PFK)及丙酮酸激酶 (PK)(Pearson et al, 1990)。本研究中在经 4 周无氧运动训练后，检测了斑马鱼肌肉中的 4 个糖酵解酶及两个线粒体酶。其中，糖酵解酶己糖激酶 (HK)、磷酸果糖激酶 (PFK)及丙酮酸激酶 (PK)均为无氧糖酵解过程中的限速酶和调控酶，而乳酸脱氢酶 (LDH)为衡量无氧酵解能力的重要指标，是无氧代谢终产物乳酸的直接催化酶。线粒体酶柠檬酸合成酶 (CS)是细胞内有氧氧化三羧酸循环过程的首要限速酶，是重要的线粒体密度的衡量指标，细胞色素 C 氧化酶 (COX)可表征细胞呼吸电子传递链的氧化磷酸化能力 (Wang et al，2002)。本研究结果显示，无氧运动训练并不显著作用于糖酵解过程中的三个关键限速酶，但诱导乳酸脱氢酶活性显著增加，说明其糖酵解速度加快，酵解能力，尤其是乳酸生成能力，在训练后得到加强，而限速酶活性并未得到显著提高说明训练强度或时长可能未达到足够强度，尚不足以诱导 3 个糖酵解调控酶产生适应性变化。

反观两个来自线粒体的代谢酶：柠檬酸合成酶 (CS) 活性显著降低说明训练后斑马鱼肌肉的有氧氧化能力下降；同时乳酸脱氢酶活性增高，可能是由于无氧运动训练加强糖酵解能力而促使肌纤维类型更多地向白肌转化，或肌纤维无氧代谢能力被诱导加强，而有氧代谢能力被削弱，而在两种代谢能力之间存在权衡，即有氧运动耐久力若被削弱，则无氧运动爆发能力将被加强。

3.4 无氧运动训练对斑马鱼的综合影响

训练后的斑马鱼肥满度显著下降，体型较对照组“苗条”，而小的体表面积游动过程中的阻力小 (Guderley, 2004)，在游动过程中能量耗费较小。研究发现鱼类生长率和运动能力存在着权衡 (Zeng, 2008)，在生长上耗费过多会影响鱼类个体运动能力，而运动训练能够延长生长、推迟繁殖 (Palstra & Planas，2011)。本研究训练组生长停滞，而对照组体型较为肥硕，提示对照组用于运动的能量较训练组少，可能将更多能量用于繁殖。由于许多代谢酶活性与鱼类生长率变化正相关 (Pelletier et al, 1993; Pelletier et al, 1995)，本研究中对照组生长率较训练组高，而训练组生长停滞，提示即便训练增加了酶活性，生长率降低导致的酶活性下降亦会抵消训练效应，这可能部分解释糖酵解限速酶无显著变化的原因，也是未来运动训练研究中值得注意的。当然也有可能体型和肌糖原含量的增加已经足够适应训练，而无需诱导增加酶活性以适应训练。这就引出一个问题，高生长率会增加代谢酶活性，增强肌肉代谢能力，但同时带来体重过重、表面积增加等对运动不利的影响。因此，综上所述，斑马鱼的无氧运动训练是各方面协调适应的过程。

参考文献：

Adam CE, Huntingford FA, Krpal J, Jobling M, Burnett SJ. 1995. Exercise, agonistic behaviour and food acquisition in Arctic charr. *Salvelinus alpinus*. *Environmental Biology of Fishes,* **43**(2): 213-218.

Cao ZD, Fu SJ. 2009. The effect of exhaustive exercise training and fasting on post-exercise oxygen consumption rate in southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen). *Acta Hydrobiologica Sinica,* **33**(5): 837-843. [曹振东, 付世建. 2009. 力竭性运动锻炼和饥饿对南方鲇运动后过量耗氧的影响. 水生生物学报, **33**(5): 837-843.]

Davison W. 1997. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **117**(1): 67-75.

Farrell AP, Johansen JA, Suarez RK. 1991. Effects of exercise-training on cardiac performance and muscle enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry*, **9**(4): 303-312.

Fu SJ, Cao ZD, Peng JL. 2007. Resting metabolic rate and body mass change of *Silurus meridionalis* to exhaustive exercise training and fasting. *Chinese Journal of Zoology,* **42**(6): 103-107. [付世建, 曹振东, 彭姜岚. 2007. 力竭运动锻炼和饥饿对南方鲇静止代谢率及体重的影响. 动物学杂志, **42**(6): 103-107.]

Gallaugher PE, Thorarensen H, Kiessling A, Farrell AP. 2001. Effects of high intensity exercise training on cardiovascular function, oxygen uptake, internal oxygen transport and osmotic balance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during critical speed swimming. *The Journal of Experimental Biology,* **204**(Pt16): 2861-2872.

Gamperl AK, Bryant J, Stevens ED. 1988. Effect of a sprint training protocol on growth rate, conversion efficiency, food consumption and body composition of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology,* **33**(6): 861-870.

Gamperl AK, Schnurr DL, Stevens ED. 1991. Effect of a sprint-training protocol on acceleration performance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Zoology,* **69**(3): 578-582.

Guderley H. 2004. Locomotor performance and muscle metabolic capacities: impact of temperature and energetic status. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B,* **139**(3): 371-382.

Hernandez MD, Mendiola P, Costa J, Zamora S. 2002. Effects of intense exercise training on rainbow trout growth, body composition and metabolic responses. *Journal of Physiology and Biochemistry,* **58**(1): 1-7.

Johnston IA, Moon TW. 1980a. Endurance exercise training in the fast and slow muscles of a teleost fish (*Pollachius virens*). *Journal of Comparative Physiology,* **135**(2): 147-156.

Johnston IA, Moon TW. 1980b. Exercise training in skeletal muscle of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *The Journal of Experimental Biology,* **87**: 177-194.

Kieffer JD. 2010. Perspective-Exercise in fish: 50+years and going strong. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology,* **156**(2): 163-168.

Liu Y, Cao ZD, Fu SJ, Peng JL, Wang YX. 2009. The effect of exhaustive chasing training and detraining on swimming performance in juvenile darkbarbel catfish (*Peltebagrus vachelli*). *Journal of Comparative Physiology B,* **179**(7): 847-855.

McClelland GB. 2012. Muscle remodeling and the exercise physiology of fish. *Exercise and Sport Sciences Reviews,* **40**(3): 165-173.

McClelland GB, Craig PM, Dhekney K, Dipardo S. 2006. Temperature-and exercise-induced gene expression and metabolic enzyme changes in skeletal muscle of adult zebrafish (*Danio rerio*). *The Journal of Physiology,* **577**(2): 739-751.

Palstra AP, Planas JV. 2011. Fish under exercise. *Fish Physiology and Biochemistry,* **37**(2): 259-272.

Pearson MP, Spriet LL, Stevens ED. 1990. Effect of sprint training on swim performance and white muscle metabolism during exercise and recovery in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The Journal of Experimental Biology,*

149(1): 45-60.

Pelletier D, Guderley H, Dutil JD. 1993. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? *Fish Physiology and Biochemistry,* **12**(2): 83-93.

Pelletier D, Blier PU, Dutil JD, Guderley H. 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *The Journal of Experimental Biology,* **198**(Pt7)110: 1493-1497.

Pelster B, Sänger AM, Siegele M, Schwerte T. 2003. Influence of swim training on cardiac activity, tissue capillarization, and mitochondrial density in muscle tissue of zebrafish larvae. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology,* **285**(2): 339-347.

Song BL, Lin XT, Xu ZN. 2012. Effects of upstream exercise training on feeding efficiency, growth and nutritional components of juvenile tinfoil barbs (*Barbodes schwanenfeldi*). *Journal of Fisheries of China,* **36**(1): 106-114. [宋波澜, 林小涛, 许忠能. 2012. 逆流运动训练对多鳞四须鲃摄食、生长和体营养成分的影响. 水产学报, **36**(1): 106-114.]

Wang JY, Zhu SG, Xu CF. 2002. Biochemistry. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press. [王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 2002. 生物化学. 第三版. 北京: 高等教育出版社.]

Wood CM. 1991. Acid-base and ion balance, metabolism, and their interaction, after exhaustive exercise in fish. *The Journal of Experimental Biology,* **160**: 285-308.

Yan GJ, Cao ZD, Peng JL, Fu SJ. 2011. The effects of exercise training on the morphological parameter of juvenile common carp. *Journal of Chongqing Normal University*: *Natural Science Edition,* **28**(3): 18-21. [闫冠杰, 曹振东, 彭姜岚, 付世建. 2011. 运动锻炼对鲤鱼幼鱼形态参数的影响. 重庆师范大学学报（自然科学版), **28**(3): 18-21.]

Zeng LQ. 2008. Effect of Temperature on Swimming Ability and Resting Metabolic Rate in Juvenile Southern Catfish (*Silurus Meridionalis* Chen). M. S. thesis, Chongqing Normal University, Chongqing. [曾令清. 2008. 温度对南方鲇幼鱼游泳能力和静止代谢率的影响. 理学硕士, 重庆师范大学, 重庆.]

动　物　学　研　究　2013，Jun. 34(3): 196−203　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0196

同一噪音环境下武夷湍蛙与凹耳蛙的求偶鸣声特征比较及其适应策略

张　方*，陈　潘，赵书仪

安徽师范大学 生命科学学院，安徽 芜湖　241000

摘要：为了解同域分布的两种无尾两栖类动物武夷湍蛙（*Amolops wuyiensis*)和凹耳蛙（*Odorrana tormotus*)在高噪音环境下的求偶鸣声特征及其适应策略，该研究利用超声录音设备录制并分析了繁殖季节武夷湍蛙和凹耳蛙雄性个体在同一噪音环境下的求偶鸣声。结果显示，繁殖期武夷湍蛙在不同时段均能发出 3~6 个音节数不等的单一鸣声，每个音节由 2~10 个声脉冲组成，鸣声平均持续时间为 2198.20 ms，主频为 2231.90 Hz，信噪声强差为 33.00 dB，且鸣声不含超声组分，不具备超声通讯的基础。凹耳蛙在每天的 18:00—21:00 有集中鸣叫行为，鸣声平均持续时间为 331.80 ms，主频为 6 665.50 Hz，信噪声强差为 37.00 dB，且鸣声谐波包含超声组分，与前人描述一致。经进一步分析发现，武夷湍蛙和凹耳蛙的鸣声主频和声强均高于背景噪音，噪音不会对其鸣声产生掩蔽作用。通过比较分析得知，武夷湍蛙鸣声主频率<凹耳蛙，推测其声信号传播距离相对后者更远，该蛙在噪音环境下有可能通过调整自身的发声策略(即采用多音节鸣叫声、增加鸣叫时长和鸣叫频次等)来完成种内通讯，并通过改变鸣声时长来体现雄性自身的品质，以便提高对雌性的吸引力。而相同噪音环境下的凹耳蛙则可能采用较为节约能量的方式提高声信号频率的通讯策略，完成种内竞争和交流。

关键词：武夷湍蛙；凹耳蛙；噪音；求偶鸣声；适应策略

中图分类号：Q959.5+3; Q437　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)03-0196-08

Comparison of mating calls and adaptive strategies of *Amolops wuyiensis* and *Odorrana tormotus* (Anura) in noise-controlled environments

Fang ZHANG*, Pan CHEN, Shu-Yi ZHAO

College of Life Science, *Anhui Normal University*, *Wuhu*　241000, *China*

Abstract: In order to understand the acoustic characteristics and adaptive strategies of sympatric male *Amolops wuyiensis* and male *Odorrana tormotus* in environments controlled for high noise levels, we recorded and analyzed the advertisement calls produced by individual males during breeding season. The results show that *A. wuyiensis* produced a single type of call composed of variable syllables (from 3 to 6 syllables) with 2~10 pulses over different time periods. The average values of call duration, dominant frequency and signal noise ratio were 2 198.20 ms, 2 231.90 Hz and 33.00 dB respectively. There were no ultrasonic elements in *A. wuyiensis* calls and they did not have the basis of ultrasonic communication. The average values of call duration, dominant frequency and signal noise ratio of *O. tormotus* were 331.80 ms, 6665.50 Hz and 37.00 dB respectively. Call structure of *O. tormotus* was consistent with previous studies. The noise did not mask the calls from the male *A. wuyiensis* and male *O. tormotus,* which have higher frequencies and amplitudes. To fulfill the intra-species communication in a noise-controlled environment, the *A. wuyiensis* male, which has a low vocal frequency and long transmission length, varied vocal frequency, composition, and duration, the latter of which serves to attract females. By contrast, the male *O. tormotus* increased vocal frequency, which reduces the energy expended on intra-species communication.

Keywords: *Amolops wuyiensis*; *Odorrana tormotus*; Noise; Mating Advertisement call; Adaptive strategy

环境中的噪音会干扰动物之间的声音通讯，即噪音的遮蔽作用将使得信号的发现和识别都更加困难（Brumm & Slabbekoorn，2005；Bee & Micheyl，2008）。通常，动物在声通讯过程中会采用不同的策

收稿日期：2012-12-14；接受日期：2013-02-21

基金项目：国家自然科学基金（31272326)；安徽省教育厅重点项目（KJ2012A142)

*通信作者(Corresponding author)，E-mail: biozhf@mail.ahnu.edu.cn

第一作者简介：张方(1973−)，男，博士，副教授，主要从事动物生态及保护生物学研究

略以抵消噪音的不利影响 (Parks et al，2011)。例如，在高噪音环境下提高鸣叫振幅 (Lombard effect) (Brumm，2004)、改变发声频率(Halfwerk & Slabbekoorn，2009)或者调整发声时间等 (提高鸣叫率、延长鸣叫时间、改变鸣叫起始时间以及避开噪音时段等) (Cynx et al，1998；Ward et al，2003；Brumm & Slabbekoorn，2005)。除噪音外，性比也影响某些动物的鸣声特征，例如，雄蛙会根据性比情况调整其鸣叫率、鸣叫持续时间、鸣叫复杂性或者提高鸣叫的脉冲率等对其他雄性鸣叫作出反映 (Ryan，1985；Wells，1988)。当周围环境中仅出现较少雄性竞争者时，雄性通过维持低鸣叫努力以保存能量，而一旦雄性竞争者较多时，雄蛙就会提高鸣叫努力以及能量支出 (Ryan，2001)。

凹耳蛙 (*Odorrana tormotus*)是首个被发现具有超声听力的两栖动物，其在高噪声环境下采用高频声信号通讯的策略可能是适应喧闹生境以及发声与听觉系统“协同进化”的结果 (Feng et al，2006；Shen et al，2008)。随后，Arch et al (2008, 2009)发现婆罗洲岛的洞蛙 (*Huia cavitympanum*)的外耳道具有与凹耳蛙相似的凹陷结构，也具有超声通讯的能力，甚至可以发出完全的超声频段进行种内通讯。当然，并非所有生活在高噪音环境下的物种均需依靠声通讯来完成种内或种间交流，例如，在非洲生活在高噪音环境(瀑布下)的蟾蜍(*Nectophrynoides asperginis*)，其鼓膜消失，听觉完全退化，但眼睛很大，视力极其发达，可依靠敏锐的视觉完成种内识别 (Arch et al，2011)。以上研究表明，两栖类动物为适应噪音环境，在漫长的演化过程中已经出现了一系列适应环境的形态和行为机制。

黄山浮溪的武夷湍蛙 (*Amolops wuyiensis*)与凹耳蛙生活在同一生境中，两者繁殖期皆活跃于背景噪音很大的湍急溪流中。为了解武夷湍蛙在高噪音环境下的通讯策略，我们在繁殖季节利用超声录音设备录制了武夷湍蛙与凹耳蛙雄性个体的求偶鸣声，通过比较分析两者的求偶鸣声特征以及发声行为，探究其在同一生境中的不同适应策略。

1　材料与方法

1.1　研究地点与研究对象

本研究地点位于黄山汤口浮溪 (N30°05′，E118°08′)，海拔 550~650 m，年平均降雨量～2 390 mm (Feng et al, 2002)。实验期间，蛙鸣叫地点的外界温度变化范围为 15.5~19.0 °C，湿度为 60%~100%。

凹耳蛙为我国特有种，分布于浙江和安徽等地，栖息于海拔 380~700 m 的山涧溪流附近，因雄蛙鼓膜凹陷形成耳道而得名。雄蛙具一对咽侧下外声囊，雌蛙鼓膜微凹陷，雌、雄个体差异较大且雌性 (体长 59.5 mm)大于雄性 (体长 33.0 mm)。凹耳蛙每年 4 月中旬陆续出眠，5 月份集聚于溪边活动 (Chen，1991)。武夷湍蛙分布于福建、浙江及安徽等地，多生活于海拔 600~1 300 m 的山区湍流或小溪流附近，常见于皖南山溪。武夷湍蛙雌、雄个体差异较小且雄蛙 (体长 40.7 mm)略小于雌蛙(体长 49.8 mm)，雄蛙具一对咽侧下内声囊。在黄山地区约 5 月下旬至 7 月为其繁殖期 (Chen，1991)。

1.2　声音录制

2012 年 4—5 月，野外录制两种蛙的雄体求偶鸣声。每种蛙分别录制 10 个个体，每个目标个体连续录音大于 10 声，采用便携式专业录音机 (Sound Devices，Model 702，Sound Devices，WI，USA；frequency range：10 Hz~96 kHz)并连接超声话筒 (G.R.A.S. 40BE，G.R.A.S. Sound &Vibration A/S，Holte，Denmark, frequency range：5 Hz~100 kHz)，于蛙鸣叫最集中的 05:00—09:00 及 17:00—23:00 进行录制。根据叫声位置寻找并确定目标个体以避免重复录制，一人持话筒慢慢靠近目标个体，距离~0.5 m，另外一人用头灯光束照射目标个体(凌晨或晚上时使用)，同时用数码摄像机 (Cannon, Model HF-M40，Japan)记录发声行为。录音后，捕捉目标个体并带回实验室测量体长(精确到 0.02 mm)及体重 (精确到 0.1 g)，第二天放回捕捉地。此外，我们还在研究区域选取了一条 100 m 的样线，连续 5 d 于 06：00—24：00 记录两种蛙鸣叫时段分布 (其中 2 d 还从 24：00—06：00 每隔 1 h 记录一次蛙鸣叫)。

1.3　声音和数据分析

利用 Batsound Pro vs.3.31 (Electronik，Uppsala，Sweden) 作示波图 (oscillograms)、语谱图 (spectrograms)和能谱图 (power spectrum)。声音采样率为 96 kHz 和 192 kHz，能谱图采用哈明窗 (Hamming)分析，精度为 21.5 Hz，分析衰减为 60 dB。利用 Sound Analysis pro v1.2 (Ofer Tchernichovski & Mitra，Ccny，America)对鸣声特征参数进行定量分析，数据以 Excel 表格形式导出。分析的声音参

数包括鸣叫持续时间或鸣声时程(ms)、音节数、音节持续时间 (ms)、音节间隔 (ms)、主频 (Hz)、脉冲率 (1/s)及信噪声强差 (鸣声与背景噪音声强差值 dB)等 (各参数定义详见 Bee，2004；Yu & Zheng, 2009)。

利用变异系数(CV=SD×100/mean)分析声音参数的个体间差异程度。采用独立样本 t-test 分析两种蛙在同一参数上是否存在差异。利用一元线性回归分析蛙的身体大小(吻端到泄殖腔的距离)与鸣叫时长之间的关系。

2　结　果

2.1　鸣叫时间谱和声图分析

06：00—24：00 的不同时间段均可听到武夷湍蛙鸣声，但无集中鸣叫现象 (图 1)。通常半径 5 m 范围内不会有两只雄蛙同声鸣叫，一只雄蛙鸣叫结束后，另一只才会开始。雄蛙多喜在溪水较平缓处裸露小石块上或溪流中水流湍急处大石块的背面鸣叫，未发现在溪流之外的灌木丛及石滩鸣叫。鸣叫时身体一般不会完全离开水面或仅微高于水面，白天反应灵敏，遇到惊吓立即入水，夜晚行动较迟缓。通常一只雄蛙鸣叫时，四周会有数只雌蛙零散分布在溪水中大石块的背面。未发现求偶期雄蛙间的竞争打斗行为。武夷湍蛙雄蛙求偶时发出清脆响亮的“gua、gua、gua”鸣声，20 m 外可听到，每次鸣叫通常有 3~6 声组成 (图 2)，每声鸣叫声囊完成一次扩张和收缩。武夷湍蛙的雄性求偶鸣声每声含有 2~10 个声脉冲，即由多个超短音节组成，不同个体间或同一个体的不同叫声均有差异 (图 2，图 3)，

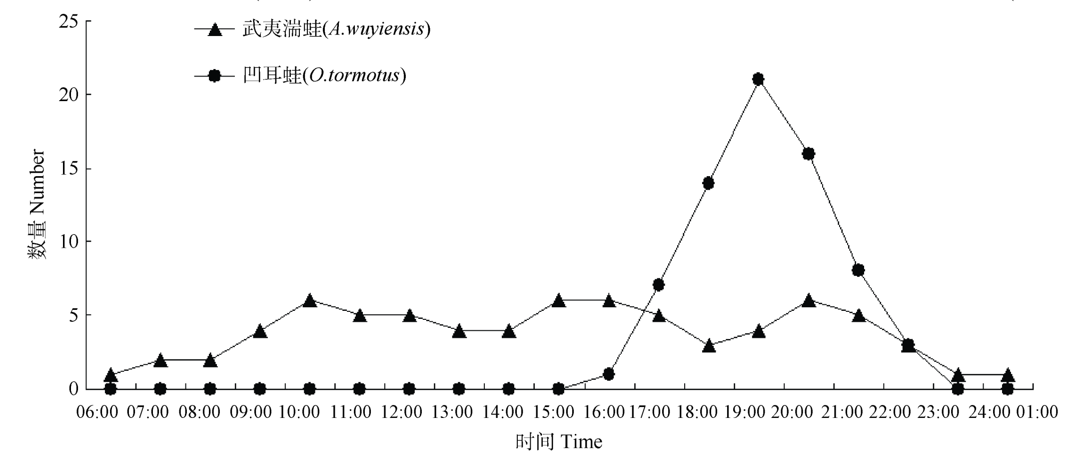


图 1　两种蛙鸣叫活动时段分布 (100 m 样线内从 06：00—24：00 连续 5 d 观测值)

Figure 1 Time distribution of call activities among *A. wuyiensis and O. tormotus*

(Observations conducted on a 100-m line transect from 06:00　to 24:00 over five consecutive days)

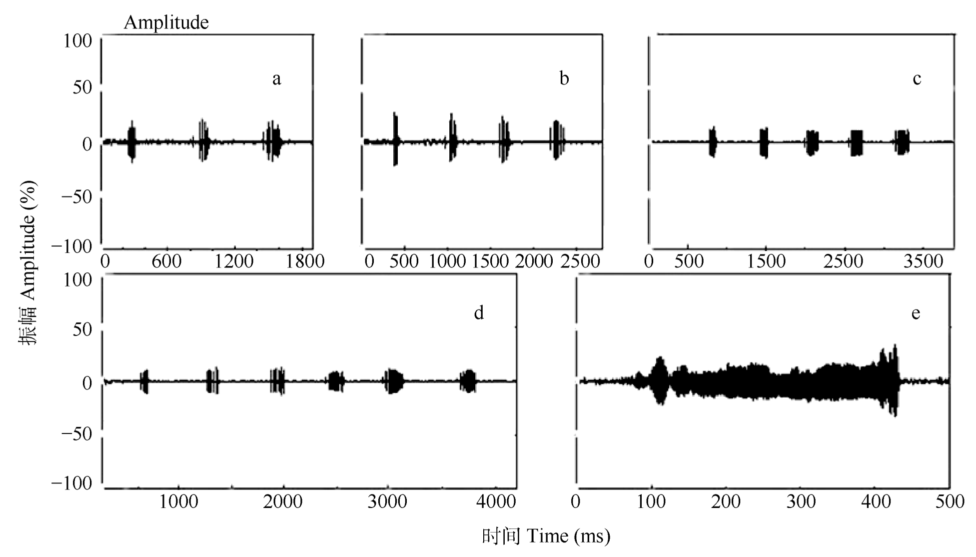


图 2　雄性武夷湍蛙鸣声示波图 (a：3 音节；b：4 音节；c：5 音节；d：6 音节)和凹耳蛙鸣声示波图 (e：单音节长音)

Figure 2　Oscillograms of advertisement calls of male *A. wuyiensis*: (a: 3 syllables; b: 4 syllables; c: 5 syllables; d: 6 syllables) and *O. tormotus* (e: single-syllable call)

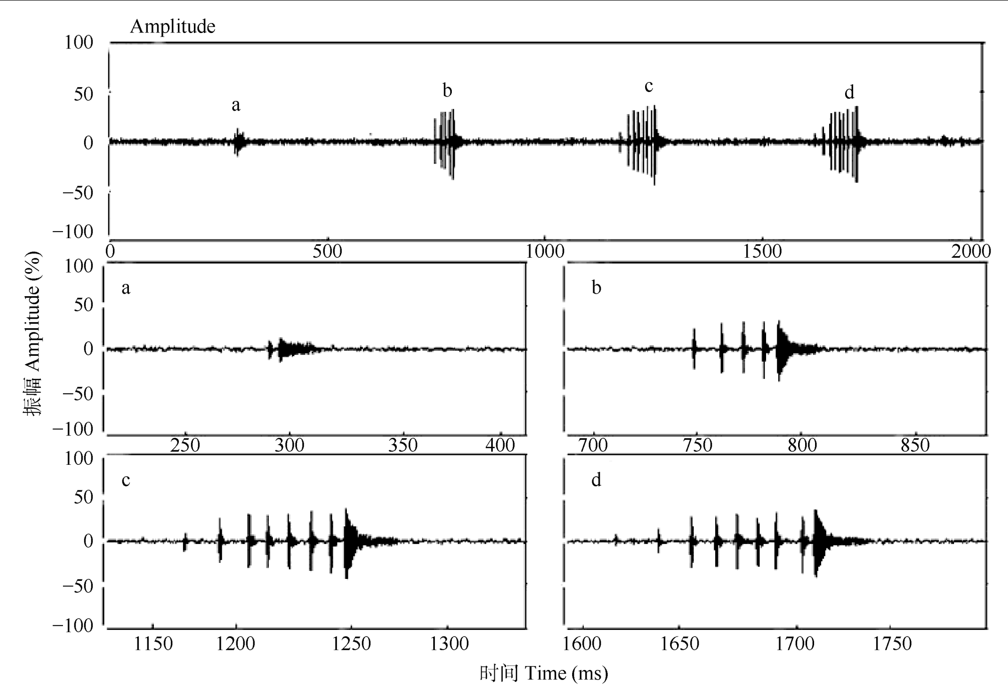


图 3　雄性武夷湍蛙脉冲示波图

Figure 3　Different pulse numbers contained in advertisement calls of male *A. wuyiensis*

a：2 脉冲；b：5 脉冲；c：8 脉冲；d：9 脉冲

a: 2 impulses; b: 5 impulses; c: 8 impulses; d: 9 impulses.

且鸣叫频域较为集中，没有太多变化，不具有超声组分 (图 4a)。能量分布单一，仅一个位于 2 000~2 300 Hz 的主能峰(图 5b)。

白天极少听到凹耳蛙鸣叫，该蛙于 18：00—21:00 有集群鸣叫现象 (图 1)，许多雄蛙攀附在溪流周围矮灌木丛或溪流边岩石上发出鸣音。一只雌蛙周围或同一区域内往往会聚集数十只雄蛙。雄蛙彼此间会有激烈的竞争鸣叫和打斗现象。雄性凹耳蛙在繁殖期间可以发出多种叫声，通常发出“ji、ji”声 (单音节长音)，每次鸣叫一声，间隔一段时间后会

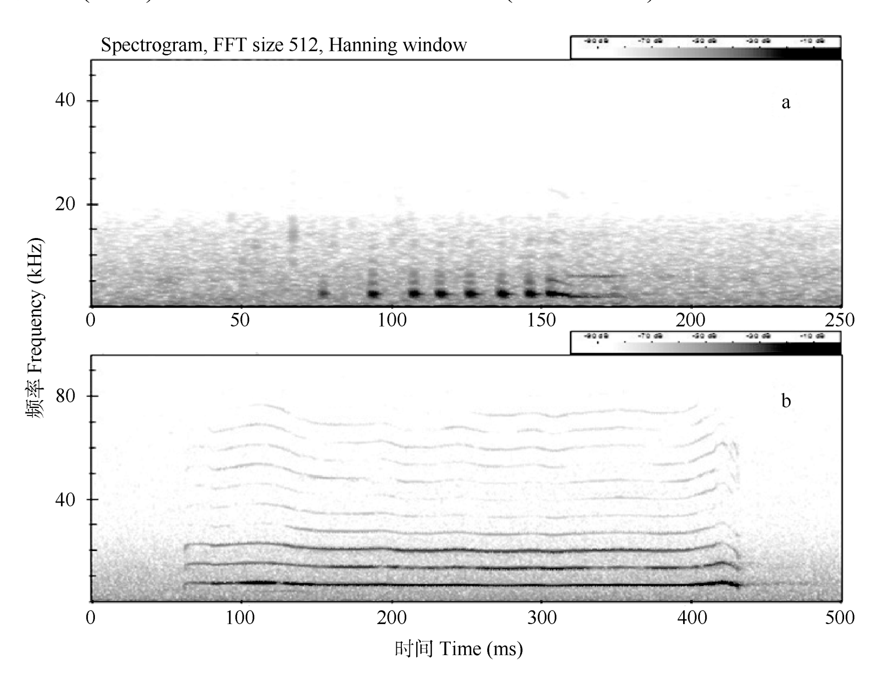


图 4　雄性武夷湍蛙 (a)和凹耳蛙 (b)的鸣声语图

Figure 4　Spectrograms of advertisement calls of *A. Wuyiensis* (a) and *O. tormotus* (b)

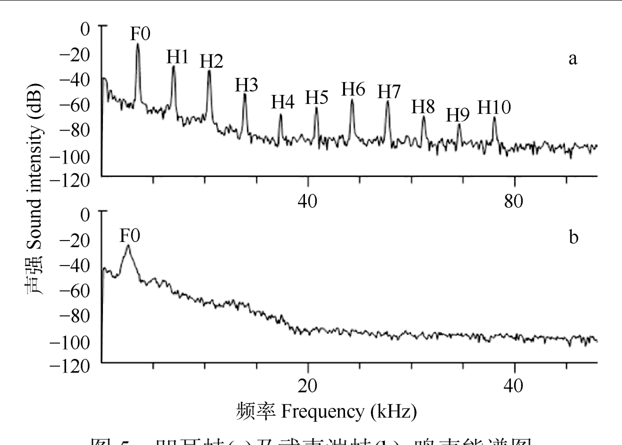


图 5 凹耳蛙(a)及武夷湍蛙(b) 鸣声能谱图

Figure 5 Power spectrum of *O. tormotus* (a) and *A. wuyiensis* (b)

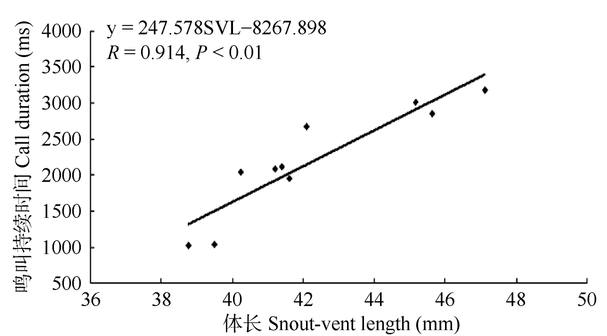


图 6 武夷湍蛙体长与鸣声持续时间的关系图

Figure 6 Relationship between call duration and body size in *A. wuyiensis*

再次发声，每声仅包括单一声脉冲 (图 2e)，每次鸣叫声囊完成一次完全扩张和收缩。若雄蛙发现周围存在雌蛙或领域周围有其他外来雄蛙存在，还会发出“da、da、da…”声，似快速敲击桌面声音，每次鸣叫数十声不等，鸣叫时声囊快速扩张和收缩。此外，有些雄蛙还能发出类似猫叫声及婴儿声等多种不同鸣声。凹耳蛙单音节长音的鸣声主频集中于>5 kHz (表 1)，具有包含超声组分的多重谐波，有些超声组分频率甚至可以达到 80 kHz (图 4b)。频谱分析(图 5a)可见其鸣叫能量分布在多个能峰上。

2.2 声音参数分析

经过统计分析，我们发现雄性武夷湍蛙鸣声平均持续 2 198.20 ms、主频为 2 231.90 Hz、信噪声强差 33.00 dB。雄蛙个体间声音参数的变异系数除主频 (*CV*=5.51)外，其余参数变异较大，其中鸣声持续时间变异最大，为 34.32，主频范围为 2015~2351 Hz，最大值与最小值之差<350 Hz (表 1)。雄性凹耳蛙鸣声平均持续 331.80 ms、主频为 6665.50 Hz、信噪声强差 37.00 dB。主频变异系数 *CV*=19.01 (表 1)，主频范围为 4 630~9 060 Hz，最大值与最小值之差>4000 Hz。

回归分析结果表明，雄性武夷湍蛙的鸣声持续时间与其体长显著相关 (*R*=0.914, *P*<0.01)(图 6)，而

表 1 雄性凹耳蛙及武夷湍蛙声音参数统计描述

Table 1 Acoustic parameter statistics of advertisement calls from male *O. tormotus* and *A. wuyiensis*

声音参数 Call parameters	物种 Species	最小值 Min	最大值 Max	平均值 Mean	方差 *SD*	变异系数 *CV*	均值 t 检验 *t*-test
鸣声持续时间 Call duration (ms)	*A. wuyiensis*	1024.00	3177.00	2198.20	754.51	34.32	*P*<0.001
	O. tormotus	229.00	392.00	331.80	46.71	14.08	
主频 Dominant frequency (Hz)	*A. wuyiensis*	2015.00	2351.00	2231.90	122.95	5.51	*P*<0.001
	O. tormotus	4630.00	9060.00	6665.50	1267.30	19.01	
脉冲率 Pulse rate (1/s)	*A. wuyiensis*	43.00	95.00	66.70	17.64	26.45	*P*<0.001
	O. tormotus	10.20	12.90	11.31	0.88	7.78	
音节数* Syllable numbers	*A. wuyiensis*	3.00	6.00	4.40	1.07	24.32	—
音节持续时间* Mean-syllable duration (ms)	*A. wuyiensis*	112.00	178.00	146.20	20.95	14.33	—
音节间隔* Time interval (ms)	*A. wuyiensis*	260.00	531.00	440.40	101.65	23.08	—
鸣叫率* Call rate (1/s)	*A. wuyiensis*	1.80	2.90	2.12	0.42	19.81	—
信噪声强差 Intensity difference in signal-to-noise (dB)	*A. wuyiensis*	22.00	46.00	33.00	5.69	17.24	*P*=0.383
	O. tormotus	26.00	45.00	37.00	6.63	17.92	
体长 Body size (mm)	*A. wuyiensis*	38.76	47.12	42.27	2.79	6.60	*P*<0.001
	O. tormotus	31.40	37.80	33.70	1.82	5.40	

*: 仅武夷湍蛙。 *: only for *A. wuyiensis*; *n*=10.

雄性凹耳蛙体长与其单音节鸣叫持续时间无显著相关 (R=0.448, P>0.05)。

3 讨 论

两栖类鸣叫的生物学功能主要是保卫领地和吸引雌性 (Jiang et al, 2002；Parris et al, 2009; Wei et al, 2011)。噪音环境下，特别是若噪声频率处在鸣声频率范围内就会产生掩蔽效应，而提高鸣声频率，与环境噪声频率不重叠，就能避免低频噪声对鸣声的掩蔽作用 (Langemann et al, 1998; Slabbekoorn & Peet, 2003)。本研究中，不仅武夷湍蛙及凹耳蛙的鸣叫频率 (鸣叫主频分别为 2 231.90 Hz 及 6 665.50 Hz)远大于环境噪音频率 (252.65 Hz)，且鸣叫声强 (分别为 98.20 dB 及 102.20 dB)也均大于噪音声强 (65.20 dB)，因此，噪音不会掩蔽两者的鸣声。但是，环境噪音会降低声音传播的距离从而影响动物的声音通讯 (Brumm & Slabbekoorn, 2005)。本研究数据证实武夷湍蛙的鸣声不具有超声组分 (<20 kHz)，个体不具备利用高频超声避开背景噪音进行种内通讯的条件。但是与凹耳蛙的可听组分相比，武夷湍蛙的鸣声主频也较低 (表 1)，由于高频声音的衰减速度比低频声音更快，因此，我们推测在相同噪音环境下武夷湍蛙声音传播的有效距离更远，更有利于吸引雌性 (Slabbekoorn & Peet, 2003)。本研究中亦发现凹耳蛙鸣声谐波包含超声组分，与前人研究描述一致研究 (Feng et al, 2002)，同时在录音过程中也发现凹耳蛙可以发出多种不同的鸣声 (即：单音节或多音节长音、单音节或多音节短音、多音节打鼓音、猫叫音及婴儿音等)，与 Feng et al (2009)的描述一致。凹耳蛙种内的高频信号通讯，可能是对高噪音环境的适应，是发声与听觉系统“协同进化”的结果 (Feng et al, 2006; Shen et al, 2008)。

蛙类鸣叫行为是受到能量约束的高耗能活动过程 (Wells et al, 1996)。研究证明，鸣叫的能量大小(持续时间)和身体大小呈正相关 (Castellano & Giacoma, 1998)，如以色列绿蟾蜍 (*Bufo viridis*) (Nevo & Schneider, 1976)以及其它蟾蜍 (Sullivan & Jr, 1988; Howard & Young, 1998)。本研究中武夷湍蛙身体大小与其鸣声时长呈显著正相关 (图 6)，即个体越大，发出的鸣声持续时间越长，同时，鸣声时长在个体间存在较大变异 (CV=34.32)。因此，我们推测雄性武夷湍蛙可能通过鸣声时长的变化来体现自身品质的好坏，并以此吸引雌蛙以及完成种内通讯 (Sullivan et al, 1995)，这种推测需要我们进一步研究验证。按照信息理论的预测，噪音环境下通过延长声信号之间的时间间隔(冗余)能够提高声信号被接收的可能 (Shannon & Weaver, 1949)。如在对日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*)和王企鹅(*Aptenodytes patagonicus*)的研究中发现，随着背景噪音的提高，物种鸣叫的音节数增加 (Potash, 1972；Lengagne et al, 1999)。在本研究中，我们发现武夷湍蛙的单个鸣声中含有多个(3~6 个)音节，而一个音节中又包含多个(2~9 个)声脉冲 (图 2，图 4)，武夷湍蛙的这种发声方式 (多音节鸣叫)可能有助于其在噪音环境下完成种内声通讯。与武夷湍蛙相比，凹耳蛙则采用了单一声脉冲的发声方式，每个音节只含有单个声脉冲，能量也集中在单一脉冲上 (图 2，图 4)。虽然这种发声方式与持续的背景噪音相似，但其声脉冲频率 (6 665.50 Hz)显著高于背景噪音 (252.65 Hz)，同样可以有效避免周围环境噪音的干扰而进行个体识别和种内交流 (Feng et al, 2006)。另外，从两种蛙的鸣叫时间节律来看，我们发现凹耳蛙的繁殖鸣叫季节在 4—5 月，日发声时间主要集中在 18：00—21：00，而武夷湍蛙的繁殖鸣叫季节在 4—7 月，日发声时间较为分散 (图 1)。武夷湍蛙的这种鸣叫方式增加了鸣叫频次，有利于其有效完成种内通讯。最后，发声的武夷湍蛙个体之间在空间分布上较为分散且很少同时鸣叫，从而在一定程度上减少了同种个体间叫声的相互干扰(生物噪音)而利于种内通讯。

标记重捕以及相关文献资料表明，繁殖季节中凹耳蛙雌、雄性比差异较大(<1:10) (Chen，1991)。根据我们的野外观察发现，一只成年雌性凹耳蛙周围或同一块区域内常常会聚集数十只该种雄蛙，因此，雄性个体为争夺交配权而出现的激烈竞争 (Feng et al, 2009)导致个体需要努力改变自身的发声方式以获得雌蛙青睐 (Ryan, 1985；Wells, 1988)。另一方面，由于凹耳蛙体型较小，体内能量储存有限，加上高声信号频率在空气中衰减较快，如果改变发声策略 (如提高发声频率或延长鸣声持续时间)来提高声信号传播，势必消耗更多的能量，因为提高发声频率或延长鸣声持续时间所消耗的能量要远远大于提高鸣声主频所需要的能量支出 (Parris, 2002)。所以，我们推测凹耳蛙可能采取提高声信号频率的通讯策略，比纯粹提高声音强度或改变鸣声

时间参数 (如提高发声率、延长鸣声持续时间及改变鸣叫起始时间等)更加符合生物体“节省能量”的生存原则 (Shen，2006)。同时，凹耳蛙鸣叫主频个体间存在的较大变异也许是种内竞争的结果 (表1)。此外，对凹耳蛙鸣叫主频和噪音值的相关分析也发现，不同噪音区域的凹耳蛙鸣叫主频会随着噪音的升高而增加 (未发表数据)，这可能也是凹耳蛙通过改变发声频率(单音节长音)来抵抗噪音影响的一个很好的佐证。

致谢：感谢美国伊利诺斯大学 Albert S. Feng 教授所提供的超声录音设备以及在野外和写作过程中给予的指导和帮助；感谢中国科学院成都生物研究所唐业忠研究员在初稿写作过程中提出的宝贵意见及建议。

参考文献：

Arch VS, Grafe TU, Narins PM. 2008. Ultrasonic signaling by a Bornean frog. *Biology Letters,* **4**(1): 19-22.

Arch VS, Richards-Zawaki CL, Feng AS. 2011. Acoustic communication in the Kihansi spray toad (*Nectophrynoides asperginis*): Insights from a captive population. *Journal of Herpetology,* **45**(1): 45-49.

Arch VS, Grafe TU, Gridi-Papp M, Narins PM. 2009. Pure ultrasonic communication in an endemic Bornean frog. *PLoS ONE,* **4**(4): 5413-5420.

Bee MA. 2004. Within-individual variation in bullfrog vocalizations: Implication for a vocally mediated social recognition system. *Journal of Acoustical Society of America,* **116**(6): 3770-3781.

Bee MA, Micheyl C. 2008. The cocktail party problem: what is it? How can it be solved? And why should animal behaviorists study it? *Journal of Comparative Psychology,* **122**(3): 235-251.

Brumm H. 2004. The impact of environmental noise on song amplitude in a territorial bird. *Journal of Animal Ecology,* **73**(3): 434-440.

Brumm H, Slabbekoorn H. 2005. Acoustic communication in noise. *Advances in the Study of Behavior,* **35**: 151-209.

Castellano S, Giacoma C. 1998. Stabilizing and directional female choice for male calls in the European green toad. *Animal Behaviour,* **56**(2): 275-287.

Chen BH. 1991. Anhui Amphbia & Repetila. Hefei: Anhui Press of Sciences & Technology (in Chinese).

Cynx J, Lewis R, Tavel B, Tse H. 1998. Amplitude regulation of vocalizations in noise by a songbird, *Taeniopygia guttata*. *Animal Behaviour,* **56**(1): 107-113.

Feng AS, Narins PM, Xu CH. 2002. Vocal acrobatics in a Chinese frog, *Amolops tormotus*. *Naturwissenschaften*, **89**(8): 352-356.

Feng AS, Riede T, Arch VS, Yu ZL, Xu ZM, Yu XJ, Shen JX. 2009. Diversity of the vocal signals of concave-eared torrent frogs (*Odorrana tormota*): Evidence for individual signatures. *Ethology,* **115**(11): 1015-1028.

Feng AS, Narins PM, Xu CH, Lin WY, Yu ZL, Qiu Q, Xu ZM, Shen JX. 2006. Ultrasonic communication in frogs. *Nature,* **440**(7082): 333-336.

Halfwerk W, Slabbekoorn H. 2009. A behavioural mechanism explaining noise-dependent frequency use in urban birdsong. *Animal Behaviour,* **78**(6): 1301-1307.

Howard RD, Young JR. 1998. Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Animal Behaviour,* **55**(5): 1165-1167.

Jiang JP, Xie F, Fei L, Ye CY, Zheng M. 2002. Mating calls of six forms of pleobatid in Wa Wu Mountain National Forest Park, Sichuan, China (Anura: Pelobatidae). *Zoological Research,* **23**(1): 89-94.

Langemann U, Gauger B, Klump GM. 1998. Auditory sensitivity in the great tit: perception of signals in the presence and absence of noise. *Animal Behaviour,* **56**(3): 763-769.

Lengagne T, Aubin T, Lauga J, Jouventin P. 1999. How do king penguins (*Aptenodytes patagonicus*) apply the mathematical theory of information to communication in windy conditions? *Proceedings of the Royal Society,* **266**(1429): 1623-1628.

Nevo E, Schneider H. 1976. Mating call pattern of green toads in Israel and its ecological correlate. *Journal of Zoology,* **178**(1): 133-145.

Parris KM. 2002. More bang for your buck: the effect of caller position, habitat and chorus noise on the efficiency of calling in the spring peeper. *Ecological Modelling,* **156**(2): 213-224.

Parris KM, Velik-Lord M, North JMA. 2009. Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecology and Society,* **14**(1): 25.

Potash LM. 1972. Noise-induced changes in calls of the Japanese quail. *Psychonomic Science,* **26**(1): 252-254.

Ryan MJ. 1985. The Tangara Frog: A Study in Sexual Selection and Communication. Chicago: University Chicago Press, 230 pp.

Ryan MJ. 2001. Feature weighting in signal recognition and discrim ination in tuńgara frogs. *In*: Ryan MJ, ed. Anuran Communication. Washington DC: Smithsonian Institution, 86-101.

Shannon CE, Weaver W. 1949. The Mathematic Theory of Communication. Urbana: Illinois University Press.

Shen JX. 2006. Novel progress on acoustic communication in the concave-eared torrent frog and its revelation. *Science Foundation in China,* **20**(6): 321-322. (in Chinese)

Shen JX, Feng AS, Xu ZM, Yu ZL, Arch VS, Yu XJ, Narins PM. 2008. Ultrasonic frogs show hyperacute phonotaxis to female courtship calls. *Nature,* **453**(7197): 914-916.

Slabbekoorn H, Peet M. 2003. Birds sing at a higher pitch in urban noise. *Nature,* **424**(6946): 267.

Sullivan BK, Wagner WEW Jr. 1988. Variation in advertisement and release calls, and social influences on calling behavior in the Gulf Coast toad (*Bufo*

valliceps). *Copeia,* **1988**(4): 1014-1020.

Sullivan BK, Ryan MJ, Verrell P. 1995. Female choice and mating system structure// Heatwole H, Sullivan B K, eds. Amphibian Biology, Vol. 2. NSW, Australia: Surrey Beatty & Sons, 469-517.

Parks SE, Johnson M, Nowacek D, Tyack PL. 2011. Individual right whales call louder in increased environmental noise. *Biology Letters,* **7**(1): 33-35.

Ward S, Speakman JR, Slater PJB. 2003. The energy cost of song in the canary, *Serinus canaria*. *Animal Behaviour,* **66**(5): 893-902.

Wei L, Lin ZH, Ma XM, Zhao LH, Ma XH. 2011. Acoustic characteristics of the tiger frog, *Hoplobatrachus rugulosus*, during the breeding season. *Zoological Research,* **32**(4): 456-460.

Wells KD. 1988. The effect of social interactions on anuran vocal behavior. *In*: Fritzsch B, Ryan M J, WiZSzynski W, Hetherington TE, Walkowiak W. The Evolution of the Amphibian Auditory System. New York: John Wiley and Sons, 433-454.

Wells KD, Taigen TL, O'Brien J. 1996. The effect of temperature on calling energetics of the spring peeper (*Pseudacris crucifer*). *Amphibia-Reptilia,* **17**(2): 149-58.

Yu BG, Zheng RQ. 2009. The advertisement call of the giant spiny frog *Paa spinosa*. *Current Zoology,* **55**(6): 411-415.

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 204−208 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0204

普达措国家公园淡水甲壳动物多样性及区系的初步分析

舒树森[1,2]，陈非洲[3]，杨君兴[2]，杨晓君[1,2,*]，陈小勇[1,2,*]

1. 西南林业大学 生命科学学院，云南 昆明 650224；
2. 中国科学院昆明动物研究所，云南 昆明 650223；
3. 中国科学院南京地理与湖泊研究所，江苏 南京 210008

摘要：该研究于 2011 年 8 月调查了云南普达措国家公园淡水甲壳动物多样性现状。结果表明，该区域共计淡水甲壳动物 11 科 24 属 29 种，其中，拟卤虫属、密刺低额溞和微齿北镖水蚤为国内新记录；枝角类和桡足类为主要淡水甲壳动物类群，占总物种数的 82.8%；淡水甲壳动物区系以广布种和古北区物种为主，分别为 48.3%和 37.9%，特有种为 10.4%，东洋区物种仅为 3.5%。在此基础上提出了应借鉴“具特殊科学价值地点”的保护方式，对国家公园甲壳动物栖息的水塘环境进行单独保护。

关键词：香格里拉；普达措；淡水甲壳动物；多样性；区系
中图分类号：Q915.819^{+}.6 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0204-05

Diversity and faunal analysis of crustaceans in Potatso National Park, Shangri-La, China

Shu-Sen SHU[1,2], Fei-Zhou CHEN[3], Jun-Xing YANG[2], Xiao-Jun YANG[1,2,*], Xiao-Yong CHEN[1,2,*]

1. *Southwest Forestry University*, *Kunming* 650224, *China*
2. *Kunming Institute of Zoology*, *Chinese Academic of Sciences*, *Kunming* 650223, *China*
3. *Nanjing Institute of Geography and Limnology*, *Chinese Academic of Sciences, Nanjing* 210008, *China*

Abstract: Potatso National Park was the first national park in mainland China, preceded by the earlier Bitahai Nature Reserve. Located in the northwest of Yunnan and on the southeast of Qinghai-Tibet plateau, Potatso is a typical low latitude and high elevation wetland nature reserve, with large areas of coniferous forest around alpine lakes and both wetland and water area ecosystems. In August, 2011, we undertook a survey of crustaceans in the park, sampling lakes, ponds, streams, and rivers throughout Potatso. We found a total of 29 species (including varieties) belonging to 24 genera and 11 families. Notable discoveries include *Parartemiopsis* sp, *Arctodiaptomus parvispinus* and *Simocephalus congener,* which are the first examples of these species to be recorded in China. Likewise, *Gammarus bitaensis* is a unique crustacean found only in Potatso National Park and *Thermocyclops dumonti* and *Gammarus paucispinus* are both endemic species to northwestern Yunnan. The overall faunal characteristics of crustaceans in the park also revealed several things about Potatso: (1) Cosmopolitan and Palaearctic elements reach 48.27% and 37.93%, clearly showing the Palaearctic element as the dominant fauna; (2) most of the crustacean, such as *Arctodiaptomus parvispinus* and *Gammarus*, are typical alpine types, confirming that Potatso has feature typical of alpine and plateau fauna; and (3) the proportion of endemic and rare crustacean species in Potatso National Park is approximately 10%, suggesting that the Potatso National Park in particular and the northwest of Yunnan in general have a unique geological and evolutionary history.

Keywords: Potatso National Park; Shangri-La; Freshwater crustacean; Diversity; Fauna

普达措国家公园位于滇西北迪庆州香格里拉县东部(N26°20′8″～27°40′31″，E99°10′22″～100°3′17″)，是中国第一个国家公园，海拔 4 159～3 200 m。一期规划总面积为 301 km^2，主要包括碧

收稿日期：2012-10-15；接受日期：2013-02-05
基金项目：国家科技部科技基础性工作专项 (2008FY110300)；国家科技支撑计划 (2008BAC39B03)；云南省科技厅社会发展科技计划 (2010GA009)
*通信作者 (Corresponding authors)，E-mails: chenxy@mail.kiz.ac.cn; yangxj@mail.kiz.ac.cn
第一作者简介：舒树森，男，云南鹤庆人，硕士研究生，主要从事甲壳动物分类和生态研究。E-mail: shuss@mail.kiz.ac.cn

塔海省级自然保护区 (碧塔海国际重要湿地)、属都湖景区以及周边地区等。普达措国家公园地理上处于青藏高原东南缘和横断山脉中西部，松潘—甘孜褶皱系中甸褶皱带，由起伏和缓的残余高原面及山地组成。强烈的区域性隆升和断裂活动，以及流水、湖泊及冰川等外力地质作用共同塑造了本区高海拔 (平均海拔＞3 000 m)和相对高差较小的山脉－盆地地貌形态 (Zeng, 2008)。

普达措国家公园前身为碧塔海省级自然保护区，是横断山脉生物多样性最为丰富的地区之一。18 世纪 70 年代，外国探险家和传教士就已开始在该区域采集标本并开展调查，20 世纪后，我国学者对普达措及其所处的横断山区进行了大量考察。尤其是 1981－1985 年中国科学院青藏高原考察和 1998 年西南林业大学碧塔海自然保护区综合科学考察 (Chen，1998; Tang，1996; Zhou & Chen, 2010)为国家公园管理提供了翔实的科学资料。而关于普达措国家公园淡水甲壳动物多样性的报道却相对较少，Wang (2010)报道了碧塔海、属都湖中的枝角、桡足类 8 种和 14 种，Hou & Li (2002)描述了属都湖流域的钩虾新种少刺钩虾 (*Gammarus paucispinus*), Shu et al (2012)描述了仅分布于碧塔海的钩虾新种－碧塔海钩虾 (*G.bitaensis*)。

本研究对普达措国家公园不同水体环境的淡水甲壳动物进行调查，并分析探讨其多样性现状、区系特点及保护方法。

1 材料和方法

1.1 研究地点

2011 年 8 月 18—22 日，在普达措国家公园内共采集水样 53 号。采样点主要集中于公园门景区、弥里塘草甸、纲擦坝草甸、洛茸村、碧塔海及属都湖等区域，基本覆盖公园内的主要湖泊和池塘等水体环境，海拔分布为 3 442～3 838 m。

1.2 采样方法

在碧塔海和属都湖的沿岸带设置 3 个采样点，敞水区设置一个采样点，选用 13 号浮游动物网 (网孔 0.112 mm) 拖取采样或“∞”形循环拖取采样，在池塘中则以浮游动物网直接在水中“∞”形循环拖取采样。所有标本在现场用 5%的甲醛固定。

1.3 鉴定和分析方法

室内鉴定主要依据《中国动物志——淡水枝角类》和《中国动物志——淡水桡足类》，同时参考钩虾科及丰年虫科等相关甲壳动物的国内外最新研究结果 (Hou & Li, 2002; Rogers, 2005; Orlova-Bienkowskaja, 2001)。所有标本保存于中国科学院昆明动物研究所标本库。

2 结 果

2.1 物种组成分析

通过镜检，在 86.8% (共 46 号)的样品中检出甲壳动物，分属 11 科 24 属 29 种 (表 1)，含 4 个未定种。枝角类和桡足类各 15 和 9 种，占所有甲壳动物物种数的 82.8%。其中，溞科 (Daphniidae)和剑水蚤科 (Cyclopidae)各 6 种；盘肠溞科 (Chydoridae) 5 种；裸腹溞科 (Moinidae)、象鼻溞科 (Bosminidae)、镖水蚤科 (Diaptomidae)及钩虾科 (Gammaridea)各 2 种；丰年虫科 (Chirocephalidea)、蚌虫科 (Cyzididae)、腺状介虫科 (Cyprididae)及异足猛水蚤科 (Canthocamptidae)各 1 种。

拟卤虫属 (*Parartemiopsis*)为中国新记录属，微齿北镖水蚤 (*Arctodiaptomus parvispineus*)和密刺低额溞 (*Simocephalus congener*)则首次在中国记录，上述 3 个物种详细特征将另文记述。

2.2 区系成分

普达措国家公园淡水甲壳动物就属的分布区而言，拟卤虫属原来仅分布于古北区的蒙古；北镖水蚤属 (*Arctodiaptomus*)、荡镖水蚤属 (*Neutrodiaptomus*)和钩虾属 (*Gammarus*)主要分布于古北区和新北区，共占总属数的 12.5%；其他各属均为世界广布属，占总属数的 83.3%。

在物种层次上，碧塔海钩虾仅分布于碧塔海及入湖溪流中，为公园的特有物种，杜氏温剑水蚤 (*Thermocyclops dumonti*)和少刺钩虾仅分布于国家公园所在的滇西北地区，为该地区的特有物种，且这 3 种特有种占总物种数的 10.3%。新记录的密刺低额溞之前分布于东欧及西伯利亚地区，为典型的古北区物种，而远东裸腹溞广泛分布于印度、中国及日本，为东洋区物种。所有物种中，广布种、古北区物种及东洋区物种各为 14、11 及 1 种，分别占总物种数的 48.3%、37.9%及 3.5%。

3 讨 论

3.1 普达措国家公园淡水甲壳动物多样性

普达措国家公园淡水甲壳动物物种丰富，共鉴定出 24 属 29 种，其中，滇西北特有种为 3 种，国

表 1　普达措国家公园甲壳动物名录及在动物地理中的归属
Table 1 List and Atributation of Crustacea in Potatso National Park

	物种名 Name		世界动物地理区划 Global fauna						中国动物地理区划 Chinese fauna						
			Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	1	2	3	4	5	6	7
	丰年虫科	CHIROCEPHALIDAE													
1	拟卤虫	*Parartemiopsis* sp.		+											
	蚌虫科	CYZICIDAE													
2	蚌虫	*Cyzicus* sp.		+									+		+
	腺状介虫科	CYPRIDIDAE													
3	泥介虫	*Ilyocypris* sp.	+	+	+	+	+	+		+					
	溞科	DAPHNIIDAE													
4	蚤状溞	*Daphnia pulex* Leydig, 1860	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	短钝溞	*Daphnia obtusa* Kurz,1874	+	+	+	+	+	+	+		+			+	+
6	锯顶低额溞	*Simocephalus serrulatus* (Koch, 1841)	+	+	+	+		+	+	+			+	+	+
7	密刺低额溞	*Simocephalus congener* (Koch, 1841)		+											+
8	方形网纹溞	*Ceriodaphnia quadrangula* (O.F.Müller,1785)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	壳纹船卵溞	*Scapholeberis kingi* Sars, 1903	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	裸腹溞科	MOINIDAE													
10	发头裸腹溞	*Moina irrasa* Brehm,1937		+		+							+	+	+
11	远东裸腹溞	*Moina weismanni* Ishikawa,1896	+											+	+
	象鼻溞科	BOSMINIDAE													
12	长额象鼻溞	*Bosmina longirostris* (O.F.Müller,1785)	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
13	颈沟基合溞	*Bosminopsis deitersi* Richard, 1895	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
	盘肠溞科	CHYDORIDAE													
14	薄片宽尾溞	*Eurycercus lamellatus* (O.F.Müller,1785)		+	+	+			+		+	+			+
15	宽扁高壳溞	*Kurzia latissima* (Kurz, 1874)		+		+							+	+	+
16	直额弯尾溞	*Camptocercus rectirostris* Schoedler,1862	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	近亲尖额溞	*Alona affinis* (Leydig, 1860)	+	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+
18	园形盘肠溞	*Chydorus sphaericus* (O.F.Müller, 1785)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	镖水蚤科	DIAPTOMIDAE													
19	西南荡镖水蚤	*Neutrodiaptomus mariadvigae mariadvigae* (Brehm,1921)		+											+
20	微齿北镖水蚤	*Arctodiaptomus parvispinus* Kiefer 1935	+												+
	异足猛水蚤科	CANTHOCAMPTIDAE													
21	瘦猛水蚤	*Bryocamptus* sp.		+											+
	剑水蚤科	CYCLOPIDAE													
22	锯缘真剑水蚤	*Eucyclops serrulatus* serrulatus (Fischer, 1851)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	如愿真剑水蚤	*Eucyclops speratus* (Lilljeborg, 1901)		+		+		+						+	+
24	绿色近剑水蚤	*Tropocyclops prasinus prasinus* (Fischer, 1860)	+	+	+	+	+						+	+	+
25	英勇剑水蚤	*Cyclops strenuus* Fischer, 1851		+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
26	草绿刺剑水蚤	*Acanthocyclops viridis* (Jurine, 1820)	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
27	杜氏温剑水蚤	*Thermocyclops dumonti* Baribwegure, 2003		+											+
	钩虾科	GAMMARIDAE													
28	少刺钩虾	*Gammarus paucispinus* Hou & Li, 2002		+											+
29	碧塔海钩虾	*Gammarus bitaensis* Shu *et al*, 2012		+											+

Ⅰ：东洋区；Ⅱ：古北区；Ⅲ：非洲区；Ⅳ：新北区；Ⅴ：澳洲区；Ⅵ：新热带区；1：东北区；2：华北区；3：蒙新区；4：青藏区；5：华中区；6：华南区；7：西南区。

Ⅰ: Oriental region; Ⅱ: Palaearctic region; Ⅲ: Ethiopian region; Ⅳ: Nearctic region; Ⅴ: Australasian region; Ⅵ: Neotropical region; 1: Northeastern China; 2: Northern China; 3: Mongolia-Xinjiang; 4: Qianghai-Tibet; 5: Central China; 6: Southern China; 7: Southwestern China.

内新记录为 1 属 3 种。该公园地处横断山区核心地带，因于第四纪未受大面积冰盖影响而成为许多动、植物的避难所，并保存了诸多古老的孑遗动、植物 (Zhou, 2010)。此次调查发现的特有和新记录淡水甲壳动物证明该区域也是甲壳动物重要的避难所和分化中心，具有较高的生物多样性保护和研究价值。

我国的淡水甲壳动物多样性研究多以浮游甲壳动物或虾、蟹等单方面调查，难以反映其全貌，目前仅有 Dai & Cai (1999)对云南省西双版纳的甲壳动物进行了系统调查整理。相对而言，普达措国家公园分布的甲壳动物物种数量少于西双版纳地区 (96 种)，并缺乏大型的虾、蟹等喜温暖的十足目类群，而后者则缺乏端足目等喜寒冷类群，这与两者所处的不同区系和环境有关。

高寒山区简单而脆弱的湖泊生态系统以及外来鱼类的入侵，都将导致甲壳动物的消亡。西南荡镖水蚤 (*Neutrodiaptomus mariadvigae mariadvigae*)和碧塔海钩虾构成了碧塔海湖泊生态系统食物链中的重要初级消费者，并均形成了单优势群落，其密度分别达到 20 000 和 113 ind./m^3，为次级消费者中甸叶须鱼 (*Ptychobarbus chungtienensis*) 的主要食物来源。保存于中国科学院南京地理与湖泊研究所于 1979 年采集的属都湖甲壳动物样品中包含有大量少刺钩虾，由此可以判断当时的属都湖生态系统与现今的碧塔海类似。但上世纪 90 年代，属都湖引入鲫鱼(*Carassius auratus auratus*)和鲤鱼(*Cyprinus carpio*) 等外来物种，致使原有的裂腹鱼和少刺钩虾在湖体中消失。本次调查中，少刺钩虾仅见于入湖溪流和属都岗河中。

国家公园自身具有生物多样性保护的功能，但保护对象不同，其保护方法和范围也不尽相同。从本次调查的结果来看，小型的水塘环境是普达措国家公园内甲壳动物重要的栖息地，但这些水塘多属季节性，未能引起管理者重视。建议采纳“具特殊科学价值地点 (SSSI)” (Chau, 2000)的保护方式，对拟卤虫属等重要甲壳动物所栖息的小型池塘环境进行单独保护。

3.2 普达措国家公园甲壳动物区系

普达措国家公园及横断山地区的动物地理区划，一直是动物区系研究中的热点问题。

在中国动物地理区划中，普达措国家公园属于东洋界中印亚界的西南区 (Zhang, 1999)。鱼类学界对该区域区系讨论较多，Zhang (1954)在讨论中国淡水鱼类区划时，并未采用动物地理区划的界别划分，将横断山地区划分在怒澜区；Li (1981)则认为其属于东洋区的华西区川西亚区；Chen (1998)等则认为其应属于一个全新的，与世界动物地理区划地位相等的青藏高原区。Forrò et al (2008)和 Boxshall & Defaye (2008)分别对全球枝角类和桡足类的多样性和区系划分中，均将横断山区划分在东洋区；Väinölä et al (2008) 在对全球端足类的多样性和区系划分中，将横断山区划分在古北区；而对横断山区昆虫区系的研究则认为，沿云南省金沙江大拐弯北岸至香格里拉县小中甸，再向西北至德钦一段，海拔在 2 800～3 000 m 米以上的地区属古北区 (Wang, 1990)。可见，普达措国家公园位于古北区和东洋区的交叉地带，或属于青藏高原区，其具体的划界界线根据不同生物类群有着不同的划分依据，即使在甲壳动物中也存在不同的意见。

就本研究结果而言，世界广布种、古北区物种、特有种及东洋区物种分别占所有物种的 48.3%、37.9、10.3%及 3.5%。即普达措国家公园内的甲壳动物区系特征以广布种为主，以北镖水蚤属为典型代表的古北区物种和特有种成分较高。新记录的拟卤虫属、密刺低额溞和微齿北镖水蚤，均为适应寒冷环境的物种，与普达措国家公园所处的高寒环境(海拔～3 500 m)相适应。且其中，前两者分布于西伯利亚和蒙古地区，而后者之前仅记录于印度克什米尔班公湖以南地区，呈现喜马拉雅−横断山间断分布，这种分布可能与第三纪古地中海退却及喜马拉雅−横断山隆升有关。

本研究认为，普达措国家公园甲壳动物区系特点为古北区成分高于东洋区，与昆虫和端足目区系划分类似。但昆虫区系的海拔线分区 (2800～3000 m)是否适用于甲壳动物，以及甲壳动物是否支持青藏高原区存在等一系列问题，仍需通过更大范围的野外调查工作来验证。

致谢：本研究野外调查工作得到了中国科学院昆明动物研究所赵亚鹏、蒋万胜博士以及碧塔海自然保护区和普达措国家公园丁文东、松卫红、毛振舜等的大力支持，部分物种鉴定得到了 Y. Ranga Reddy、Kay Van Damme 和 D. Christopher Rogers 教授的热情指导。

参考文献：

Boxshall GA, Defaye D. 2008. Global diversity of copepods (Crustacea: Copepoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**(1): 195-207.

Chau L, Lan M, Han B, Siu G. 2000. The present status and conservation of the biodiversity in Hong Kong. *Chinese Biodiversity*, **8**(1): 25-35. [周锦超, 刘惠宁, 侯智恒, 萧丽萍. 2000. 香港的生物多样性及其保育工作. 生物多样性, **8**(1): 25-35.]

Chen YY. 1998. The Fish of the Hengduan Mountains Region. Beijing: Science Press. [陈宜瑜. 1998. 横断山区鱼类. 北京: 科学出版社.]

Dai AY, Cai YX. 1999. Distribution and fauna characteristics of Crustacea from Xishuangbanna region, Yunnan province (Arthropoda: Crustacea). *Acta Zootaxonomica Sinica*, **24**(1): 20-26. [戴爱云, 蔡奕雄. 1999. 云南西双版纳甲壳动物分布及区系特点 (节肢动物门: 甲壳动物总纲) . 动物分类学报, **24**(1): 20-26.]

Forrò L, Korovchinsky NM, Kotov AA, Petrusek A. 2008. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**(1): 177-184.

Hou ZE, Li SQ. 2002. Descriptions of two new species of the genus *Gammarus* (Crustacea: Amphipoda: Gammaridae) from Yunnan, China. *The Raffles Bulletin of Zoology*, **50**(1): 37-52.

Li SZ. 1981. Chinese Freshwater Fish Distribution and Divisions. Beijing: Science Press, 1-292. [李思忠. 1981. 中国淡水鱼类的分布区划. 北京: 科学出版社, 1-292.]

Orlova-Bienkowskaja MY. 2001. Cladocera, Anomopoda: Daphniidae, Genus Simocephalus. Leiden: Backhuys Publisher.

Rogers DC. 2005. A new genus and species of chirocephalid fairy shrimp (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) from Mongolia. *Zootaxa*, **997**: 1-10.

Shu SS, Yang XJ, Chen XY. 2012. *Gammarus bitaensis*, a new species of amphipod from Yunnan, China (Amphipoda, Gammaridae). *Crustaceana*, **85**(10): 1193-1204.

Tang CZ. 1996. The Bird of the Hengduan Mountains Region. Beijing: Science Press. [唐蟾珠. 1996. 横断山区鸟类. 北京: 科学出版社.]

Väinölä R, Witt J D S, Grabowski M, Bradbury J H, Jazdzewski K, Sket B. 2008. Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**(1): 241-255.

Wang SY. 1990. Primary discussion on the fauna of Hengduan Mountains, China. *Acta Entomologica Sinica*, **33**(1): 94-101. [王书永. 1990. 横断山区昆虫区系初探. 昆虫学报, **33**(1): 94-101.]

Wang ZZ. 2010. Plankton of Yunnan's wetland. *In*: Yang L, Li H, Yang XJ. Yunnan Wetland. Beijing: Chinese Forestry Publishing House, 175-329. [王忠泽. 2010. 云南的湿地浮游生物. 见：杨岚, 李恒, 杨晓君. 云南湿地. 北京: 中国林业出版社, 175-329.]

Zeng FQ. 2008. Plateau wetland protect and use in Potatso National Park. *Science & Technology Information*, (16): 535. [曾凤琴. 2008. 普达措国家公园高原湿地保护与利用. 科技信息, (16): 535.]

Zhang CL. 1954. Distribution of freshwater fish in China. *Acta Geographica Sinica*, **20**(3): 279-284. [张春霖. 1954. 中国淡水鱼类的分布. 地理学报, **20**(3): 279-284.]

Zhang RZ. 1999. Zoogeography of China. Beijing: Science Press. [张荣祖. 1999. 中国动物地理. 北京: 科学出版社.]

Zhou W, Chen BK. 2010. Yunnan Bitahai Nature Reserve. Kunming: Yunnan Science Press. [周伟, 陈宝昆. 2010. 云南碧塔海自然保护区. 昆明: 云南科技出版社.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 209−213 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0209

虎纹蛙蝌蚪对同域分布两种蝌蚪的食物选择

韦 力[1]，林植华[1,*]，赵仁友[2]，陈世通[2]

1. 丽水学院 生态学院，浙江 丽水 323000；
2. 丽水九龙国家湿地公园 管理处，浙江 丽水 323000

摘要：该文以虎纹蛙 (*Hoplobatrachus chinensis*) 蝌蚪为研究对象，检测其作为捕食者对同域分布两种不同类型 (可口性和非可口性) 猎物蝌蚪 (黑眶蟾蜍和黑斑侧褶蛙)的食物选择及行为响应。结果表明，由于该两种被捕食物种在面对其共同捕食者或天敌时采取不同的反捕食策略 (化学防卫及行为表现)，即虎纹蛙蝌蚪在进食具有毒素的黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*)蝌蚪后，能够在短时间内减少对这种可口性差的食物的选择，具有短期记忆行为，而黑斑侧褶蛙 (*Pelophylax nigromaculatus*) 蝌蚪能够采用行为防卫机制以减少被捕食风险，因此，虎纹蛙蝌蚪对两种猎物蝌蚪的总体选择不表现明显倾向。该结果为这 3 种两栖类动物的行为生态学研究提供了基础数据。

关键词：无尾类；食物选择；虎纹蛙；黑眶蟾蜍；黑斑侧褶蛙
中图分类号：Q959.5^{+}3 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0209-05

Prey selection by tiger frog larvae (*Hoplobatrachus chinensis*) of two sympatric anuran species' tadpoles

Li WEI[1], Zhi-Hua LIN[1,*], Ren-You ZHAO[2], Shi-Tong CHEN[2]

1. *College of Ecology, Lishui University, Lishui* 323000*, China*
2. *Jiulong National wetland Park management office, Lishui* 323000*, China*

Abstract: We examined the prey selection and behavioral responses of tiger frog *Hoplobatrachus chinensis* larvae exposed to unpalatable and palatable sympatric prey tadpoles, *Bufo melanostictus* and *Pelophylax nigromaculatus*. We found that after a short exposure to the toxic toad tadpoles *B. melanostictus*, predators may learn to decrease going after unpalatable prey, subsequently it seems they may express short-term behavioral memory in order to avoid the toxic prey. In general, *H. chinensis* showed no preference for either any of the two prey species, which may be the result of *P. nigromaculatus* using behavioral performance and chemical defense as antipredatation strategies. These results facilitate further investigation of other aspects of the behavioral ecology of these three anuran species and hint at some potentially interesting possibilities of memory in choice of prey which may suggest further study.

Keywords: Anura; Prey selection; *Hoplobatrachus chinensis*; *Bufo melanostictus*; *Pelophylax nigromaculatus*

捕食作用的进化反映捕食者对食物和能量利益需求的优化选择 (Yamaguchi et al, 2011; Stein, 1977; Cody, 1974; Pulliam, 1974)和被捕食者降低死亡风险的选择 (Johansson et al, 2010; Hossie et al, 2010; Lind & Cresswell, 2005; Stein, 1977; Charnov et al, 1976)。在该种间关系中，捕食者可通过多种方式影响猎物的表型特征，如直接释放化学指示物、非随意猎杀及间接减少猎物种类 (主要目的为减少竞争)等(Van Buskirk et al, 1997; Wellborn, 1994)。另一方面，被捕食者可以通过改变自身的形态特征、行为活动、生境利用和生活史特征等方面来应对天敌所带来的危害 (Orizaola et al, 2012; Tollrian & Harvell, 1999; Schlichting & Pigliucci, 1998; Warkentin, 1995)。例如，被捕食者在捕食者视觉效果较差的生境区域 (如靠近植物)生长并减少活动水平 (Relyea, 2000)，或者在被捕食时自身

收稿日期：2013-01-04；接受日期：2013-01-25
基金项目：国家自然科学基金资助项目 (30970435，31270443)；丽水市科技计划项目 (20110426)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: zhlin1015@126.com
第一作者简介：男(1979－)，博士，主要从事动物生态学和种群遗传学研究

释放出化学防卫毒素来减少致命危害(Nelson et al, 2011a)。同时，被捕食者也会为自己的反捕食行为付出代价，例如，觅食时间缩短及生长发育速率降低等(Tollrian & Harvell, 1999; Schlichting & Pigliucci, 1998; Kats & Dill, 1998; Lima & Dill, 1990)。

无尾两栖类蝌蚪的捕食关系已有报道。一般认为，蟾蜍属动物，如大蟾蜍 (*Bufo bufo*)和美洲蟾蜍(*B. marinus*)能够通过分泌化学毒素来影响捕食者摄食时的口感(Duellman & Trueb, 1986; Daly, 1995)，同时也表现出明显的集群现象 (Nelson et al, 2011a; Nelson et al, 2011b; Álvarez & Nicieza, 2009; Nelson, 2008)；而蛙科 (Ranidae)和雨蛙科 (Hylidae)物种，如黑斑侧褶蛙 (*Pelophylax nigromaculatus*)、欧洲林蛙(*Rana temporaria*)和灰树蛙(*Hyla versicolor*)等，在面对捕食者时通常表现出相当多的行为反应谱，包括降低活动水平、形成隐蔽保护色以及进行集群生活等。但这些物种与蟾蜍科动物相比缺乏有效的化学防卫措施，因此，更容易成为无脊椎动物和脊椎动物捕食者的捕食对象 (Fei et al, 2009; Relyea, 2002a; Nicieza, 2000)。已有研究表明，在自然条件下捕食者并非随意大量捕食猎物，而是具有一定的选择性，如活动频次高、尾鳍较浅且体形相对较大的蝌蚪往往被捕食的几率较大(Álvarez & Nicieza, 2006; Relyea, 2001; Van Buskirk & Relyea, 1998)。而捕食者分泌的化学警示物及种内个体竞争均会降低蝌蚪活动水平，进而导致个体发育出相对较小的体形和较深的尾鳍 (Crossland & Shine, 2012; Relyea, 2001; Relyea & Mills, 2001; Relyea, 2000; Relyea & Werner, 1999；Relyea, 2002b; Anholt & Werner, 1995)。

虎纹蛙(*Hoplobatrachus chinensis*)隶属于无尾目 (Anura)蛙科(Ranidae)，通常生活在农田和水沟生境，国内主要分布于华南地区，国外主要为东南亚一带 (Fei et al, 2009)。根据 Geng et al (2002)以及 Lin & Ji (2005)的研究报道，虎纹蛙生活史各时期均具有肉食性、甚至同类相食现象。本文拟以虎纹蛙蝌蚪为捕食者，以与其同域分布的黑眶蟾蜍(*Bufo melanostictus*)蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪为猎物对象，研究虎纹蛙蝌蚪对这两种不同食物类型的喜好，以及在捕食猎物后是否表现相应的学习记忆行为 (learning behavior)。在简明的实验环境中，我们假设：(1)若黑眶蟾蜍蝌蚪毒素对虎纹蛙蝌蚪捕食无影响，那么虎纹蛙蝌蚪将同等对待两种食物，反之，若黑眶蟾蜍蝌蚪毒素对虎纹蛙蝌蚪影响显著 (如可口性)，虎纹蛙蝌蚪将减少对其摄食；(2)若存在学习和记忆行为，虎纹蛙在后续实验中将减少捕食可口性差的黑眶蟾蜍蝌蚪；(3)若黑斑侧褶蛙通过行为(如活动频次、瞬时速度) 来有效减少被捕食几率，则两种蝌蚪的被捕食数量将仍然保持平衡。

1 材料与方法

1.1 实验动物采集与饲养

2011 年 5 月，从丽水学院校园内的临时水塘中收集黑眶蟾蜍和黑斑侧褶蛙受精卵，带回两栖爬行动物实验室，分别孵育于 50 L 容积的不透明塑料箱(60 cm×40 cm×35 cm)，使用 48 h 曝气水。喂食商业鱼粉饲料，每 4 d 换水一次。蝌蚪生长发育至 27～30 历期 (Gosner, 1960)后作为被捕食者用于本实验。

同时，从丽水学院两栖爬行动物实验室收集抱对的虎纹蛙成体，置于 50 L 容积的不透明塑料箱(60 cm×40 cm×35 cm)中产卵，使用 48 h 曝气水，产卵后取出亲本。受精卵孵化并饲养至 38～40 历期后作为捕食者用于本实验。

1.2 实验设计

根据 Nelson et al (2011a)的实验研究方法，随机挑选 24 尾虎纹蛙蝌蚪并随机平均分为实验组(toad-experienced treatment)和第 2 天对照组(2-day control treatment)及第 6 天对照组(6-day control treatment)(图 1)。其中实验组在整个实验期间多次重复捕食黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪，第 2 天及第 6 天对照组分别于实验开始 1 d 和 5 d 后首次接触食物蝌蚪。

每个实验处理组中的 8 尾虎纹蛙蝌蚪分别单独置于不透明塑料盒中 (30 cm×20 cm×12 cm)，加 48 h 曝气水，水深 4 cm，室温 25～28 ℃，并于实验前禁食 24 h。按照 Álvarez & Nicieza (2009)的方法，第 1 天，为实验组中的每尾虎纹蛙蝌蚪分别提供黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪各 5 尾作为猎物，第 2 天对照组和第 6 天对照组则用鱼粉饲料喂养。捕食实验时，10：00—11：00，每隔 5 min 记录每个塑料盒内的存活黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪个数，随后，立即取出存活的猎物蝌蚪并于 1 h 后为每个塑料盒换水，以去除猎物化学信息。第 2 天，在相同的时间点为实验组和第 2 天对照组

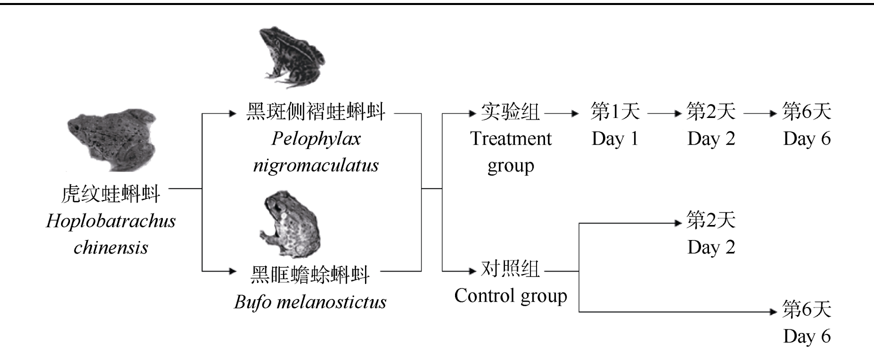


图 1　实验设计流程示意图

Figure 1　Experimental design skeleton

的每尾虎纹蛙蝌蚪分别提供黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪各 5 尾作为猎物，而第 6 天对照组的虎纹蛙蝌蚪则继续以鱼粉饲料为食物，其余实验程序同第 1 天。第 3、4、5 天，实验组和第 6 天对照组的虎纹蛙蝌蚪用鱼粉饲料喂食。第 6 天，在相同的时间点为实验组和第 6 天对照组的每尾虎纹蛙蝌蚪分别提供 5 尾黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪各 5 尾作为猎物，其余实验程序同第 1 天。

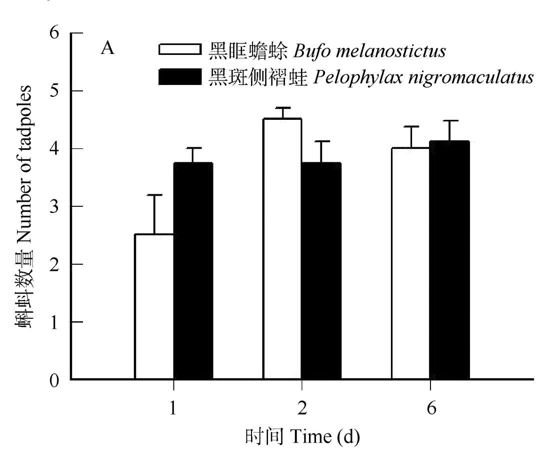
1.3　数据统计

统计前，对数据进行正态性和方差同质性检测。采用分析软件 Statistica 5.0 Software 中的 two-way repeated measure ANOVA 计算黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪存活率。采用同一分析软件中的 one-way ANOVA 统计猎物蝌蚪物种数据以分析虎纹蛙蝌蚪在不同时间捕食差异的原因。

2　结　果

实验过程的定性观察表明，黑斑侧褶蛙蝌蚪的活动频次明显低于黑眶蟾蜍蝌蚪，而瞬时游泳速度则明显大于黑眶蟾蜍蝌蚪。对照组 (首次接触猎物的实验数据)的 two-way repeated measure ANOVA 结果显示，不同时间 ($F_{2,42}$=3.13，P=0.054)、不同食物 ($F_{1,42}$=3.24，P=0.079)及两者的相互作用 ($F_{2,42}$=1.40，P=0.258)对虎纹蛙蝌蚪捕食的影响均不显著(图 2)。

实验组的 two-way repeated measure ANOVA(不同时间为重复设置)结果显示，不同时间($F_{2,28}$=4.07，P<0.028)虎纹蛙蝌蚪的捕食情况差异显著，表现为第 1 天最多，第 2 天显著减少，第 6 天与第 1 天和第 2 天差异不显著，且不同食物($F_{1,14}$=0.38，P=0.549)和两者的相互作用对($F_{2,28}$=3.26，P=0.054)其捕食影响不显著 (图 2)。为了分析虎纹蛙不同时间捕食差异的原因，进行进一步的统计分析，虎纹蛙捕食黑眶蟾蜍蝌蚪的 one-way ANOVA 显示，第 1 天最多，第 2 天显著减



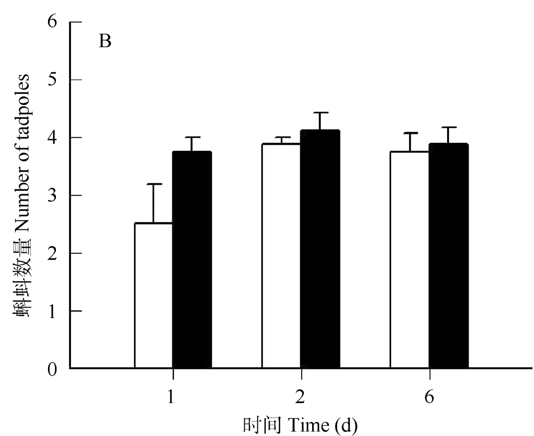


图 2　在实验组 (A)和对照组 (B)中的黑眶蟾蜍和黑斑侧褶蛙蝌蚪的存活数量 (mean+*SE*)比较

Figure 2　Survival rates (mean+*SE*) of *Bufo melanostictus* and *Pelophylax nigromaculatus* tadpoles offered to predators (*Hoplobatrachus chinensis* larvae) in both experimental (A) and control (B) groups.

少，第 6 天与第 1 天和第 2 天差异不显著 ($F_{2,14}$=5.20，P<0.021)。虎纹蛙捕食黑斑侧褶蛙蝌蚪的 one-way ANOVA 显示，不同时间差异不显著 ($F_{2,14}$=0.47，P=0.637)(图 2)。

3 讨 论

捕食作用是捕食者与被捕食者相遇后，前者对后者捕捉、处理和消化的一系列过程 (Relyea, 2001)。许多物种生活在具有多个捕食者的环境中并在其生活史各时期演化出一系列可诱导和形成与减少捕食风险相关的防卫措施 (如行为、形态或生理特征影响捕食者的探测、抓捕和消化)(Dayton et al, 2005)。防卫行为的最重要选择压力可能不由捕食者直接造成，而是由生物环境作为整体或由生物环境与猎物种类的其他生活史特征的相互作用所导致，如生长和发育 (Arendt, 1997)。在这种情况下，本能和防卫目标与猎物自身的生活史特征密切相关。例如，隐蔽色和降低活动水平被认为是物种生长缓慢和延迟生活史历期过渡时间，而依赖于化学防卫的物种不与其觅食活动相冲突，一般生长和发育速度较快 (Arendt, 1997)。

在本研究实验环境中可见虎纹蛙蝌蚪攻击、捕食黑眶蟾蜍蝌蚪和/或黑斑侧褶蛙蝌蚪，进食后所有捕食者个体在整个实验期间全部存活，受到虎纹蛙攻击受伤但未被吞吃的黑眶蟾蜍蝌蚪和黑斑侧褶蛙蝌蚪在种内或种间均未出现相互攻击和吞吃现象。实验第 1 天，虎纹蛙蝌蚪捕食黑眶蟾蜍蝌蚪的数量要多于黑斑侧褶蛙蝌蚪，但差异不显著，由于虎纹蛙首次同时遇到两种食物类型，故可能按照捕食难易程度或近距离原则来捕捉猎物，另一方面，也可能与两种猎物所采用的潜在反捕食策略有关。目前一般认为，被捕食者在应对捕食者时主要采用两种反捕食策略，即行为防卫策略和化学防卫策略 (Álvarez & Nicieza, 2009)。采用行为防卫策略的物种在个体行为上通常表现良好的优越性，如面对捕食者时具有快速的反应能力和拥有很高的游泳或跳跃爆发速度 (Arendt, 2009; Dayton et al, 2005)，而行为表现又与其自身形态特征紧密相关，如尾型和尾大小(Álvarez & Nicieza, 2009; Relyea, 2002b; Wilson & Franklin, 2000; Van Buskirk & McCollum, 2000)。另一方面，被捕食者也可以通过减缓生长发育或减少活动水平来应对捕食者 (Arendt, 2009; Dayton et al, 2005; Richardson, 2001)。虽然本次实验我们未收集两个物种的形态和行为表现 (游泳)数据，但从本实验定性直接观察中可见分泌毒素的黑眶蟾蜍蝌蚪活动频次高于黑斑侧褶蛙蝌蚪，但其面对攻击时的逃避瞬时速度低于后者，因此，两者的最终被捕食数量无明显差异。第 1 天实验时虎纹蛙蝌蚪基本上同等对待两种猎物蝌蚪，验证了第一个假设，同时，黑眶蟾蜍蝌蚪在第 1 天实验时受到虎纹蛙攻击和捕食的频次或数量多于黑斑侧褶蛙蝌蚪就很容易理解了。在第 2 天实验时，黑眶蟾蜍蝌蚪的被捕食数量显著减少，此时，具有毒素的黑眶蟾蜍蝌蚪可能表现明显的化学防卫策略，虎纹蛙蝌蚪也可能表现行为记忆能力 (Nelson et al, 2011b)，即通过第 1 天的捕食尝试后尽量避免可口性差的食物，这个结果似乎验证了我们的第二个假设，但有意思的是，我们发现实验组黑眶蟾蜍蝌蚪在第 6 天实验时的被捕食个体数量比例又有所上升。该结果可能是由于短时间后捕食者虎纹蛙蝌蚪丢失了学习记忆能力，又重新尝试吞吃可口性差的猎物。另一方面，相对于黑斑侧褶蛙蝌蚪，黑眶蟾蜍蝌蚪的敏感性较低，活动频次较大，因此，黑眶蟾蜍蝌蚪本身就较易受到攻击和吞吃。在此种情况下，利用化学防卫要优于行为和形态防卫 (Nelson et al, 2011a; Nelson et al, 2011b; Crossland, 1998)。因此，对于黑眶蟾蜍蝌蚪，化学防卫可能弥补了它们游泳表现和敏感性的不足，另一方面，黑斑侧褶蛙蝌蚪可能因具有较大的瞬时速度和较低的活动频次而采用行为防卫机制，有利于它们有效逃避虎纹蛙蝌蚪的捕食，导致最终两者被虎纹蛙捕食的数量比例相近，从而验证了第三个假设。

综上所述，捕食者虎纹蛙蝌蚪在进食具有毒素的黑眶蟾蜍蝌蚪以后，能够在短时间内减少选择这种可口性差的食物，具有短时间的记忆行为，但总体上对两种猎物蝌蚪的选择无明显倾向性，这可能是由于黑斑侧褶蛙所采用的行为防卫机制降低了被捕食风险。即两个物种在面对其共同捕食者或天敌时将采取不同的反捕食策略，如行为表现和化学防卫。这些结果将为这三种两栖类动物行为生态学的进一步研究提供基础数据。

致谢：感谢赵丽华和马小浩对本研究工作的帮助。

参考文献：

Álvarez D, Nicieza AG. 2006. Factors determining tadpole vulnerability to predators: Can prior experience compensate for a suboptimal shape? *Evol Ecol,* **20**(6): 523-534.

Álvarez D, Nicieza AG. 2009. Differential success of prey escaping predators: tadpole vulnerability or predator selection? *Copeia,* **2009**(3): 453-457.

Anholt BR, Werner EE. 1995. Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. *Ecology,* **76**(7): 2230-2234.

Arendt JD. 2009. Influence of sprint speed and body size on predator avoidance in New Mexican spadefoot toads (*Spea multiplicata*). *Oecologia,* **159**(2): 455-461.

Arendt JD. 1997. Adaptive intrinsic growth rates: an integration across taxa. *Quart Rev Biol*, **72**(2): 149-177.

Charnov EL, Orians GH, Hyatt K. 1976. Ecological implications of resource depression. *Am Nat,* **110**(972): 247-259.

Cody ML. 1974. Optimization in ecology. *Science,* **183**(4130): 1156-1164.

Crossland MR. 1998. Ontogenetic variation in toxicity of tadpoles of the introduced toad *Bufo marinus* to native Australian aquatic invertebrate predators. *Herpetologica,* **54**(3): 364-369.

Crossland MR, Shine R. 2012. Embryonic exposure to conspecific chemicals suppresses cane toad growth and survival. *Biol Lett,* **8**(2): 226-229.

Daly JW. 1995. The chemistry of poisons in amphibian skin. *PNAS,* **92**(1): 9-13.

Dayton GH, Saenz D, Baum KA, Langerhans RB, DeWitt TJ. 2005. Body shape, burst speed and escape behavior of larval anurans. *Oikos,* **111**(3): 582-591.

Duellman WE, Trueb L. 1986. Biology of Amphibians. New York: McGraw-Hill.

Fei L, Hu SQ, Ye C, Huang YZ. 2009. Fauna Sinica: Amphibia: Vol. 2: Anura. Beijing: Science Press (in Chinese).

Geng BR, Ke FJ, Liu ZB. 2002. The study of feeding habits and behavior of *Hoplobatrachus rugulosus*. *J Fujian Teach Univ (Nat Sci Ed),* **18**(3): 73-76 (in Chinese).

Gosner KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica,* **16**(3): 183-190.

Hossie TJ, Ferland-Raymond B, Burness G, Murray DL. 2010. Morphological and behavioural responses of frog tadpoles to perceived predation risk: A possible role for corticosterone mediation? *Ecoscience,* **17**(1): 100-108.

Johansson F, Lederer B, Lind MI. 2010. Trait performance correlations across life stages under environmental stress conditions in the common frog, *Rana temporaria*. *PLoS ONE,* **5**(7): e11680.

Kats LB, Dill LM. 1998. The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience,* **5**(3): 361-394.

Lima, SL, Dill LM. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Can J Zool,* **68**(4): 619-640.

Lin ZH, Ji X. 2005. Sexual dimorphism in morphological traits and food habits in tiger frogs, *Hoplobatrachus rugulosus* in Lishui, Zhejiang. *Zool Res,* **26**(3): 255-262 (in Chinese).

Lind J, Cresswell W. 2005. Determining the fitness consequences of antipredation behavior. *Behav Ecol,* **16**(5): 945-956.

Nelson DWM. 2008. *Bufo* for breakfast: how cane toads affect native predators and their prey. BSc Honours thesis. Sydney: School of Biological Sciences, University of Sydney.

Nelson DWM, Crossland MR, Shine R. 2011a. Foraging responses of predators to novel toxic prey: effects of predator learning and relative prey abundance. *Oikos,* **120**(1): 152-158.

Nelson DWM, Crossland MR, Shine R. 2011b. Behavioural responses of native predators to an invasive toxic prey species. *Austr Ecol,* **36**(6): 605-611.

Nicieza AG. 2000. Interacting effects of predation risk and food availability on larval anuran behaviour and development. *Oecologia,* **123**(4): 497-505.

Orizaola G, Dahl E, Laurila A. 2012. Reversibility of predator-induced plasticity and its effect at a life-history switch point. *Oikos,* **121**(1): 44-52.

Pulliam HR. 1974. On the theory of optimal diets. *Am Nat,* **108**(950): 59-75.

Relyea RA, Werner EE. 1999. Quantifying the relation between predator-induced behavior and growth performance in larval anurans. Ecology, **80**(6): 2117-2124.

Relyea RA. 2000. Trait-mediated indirect effects in larval anurans: reversing competition with the threat of predation. *Ecology,* **81**(8): 2278-2289.

Relyea RA. 2001. The relationship between predator risk and antipredator responses in larval anurans. *Ecology,* **82**(2): 541-554.

Relyea RA, Mills N. 2001. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to grey treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). *PNAS,* **98**(5): 2491-2496.

Relyea RA. 2002a. The many faces of predation: how induction, selection, and thinning combined to alter prey phenotypes. *Ecology,* **83**(7): 1953-1964.

Relyea RA. 2002b. Competitor-induced plasticity in tadpoles: consequences, cues, and connections to predator-induced plasticity. *Ecol Monogr,* **72**(4): 523-540.

Richardson JML. 2001. A comparative study of activity levels in larval anurans and response to the presence of different predators. *Behav Ecol,* **12**(1): 51-58.

Schlichting CD, Pigliucci M. 1998. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Stein RA. 1977. Selective predation, optimal foraging, and the predator-prey interaction between fish and crayfish. *Ecology,* **58**(6): 1237-1253.

Tollrian R, Harvell CD. 1999. The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton NJ: Princeton University Press.

Van Buskirk J, McCollum SA, Werner EE. 1997. Natural selection for environmentally-induced phenotypes in tadpoles. *Evolution,* **51**(6): 1983-1992.

Van Buskirk J, Relyea RA. 1998. Natural selection for phenotypic plasticity: predator-induced morphological responses in tadpoles. *Biol J Linn Soc,* **65**(3): 301-328.

Van Buskirk J, McCollum SA. 2000. Influence of tail shape on tadpole swimming performance. *J Exp Biol,* **203**(Pt 14): 2149-2158.

Warkentin KM. 1995. Adaptive plasticity in hatching age: a response to predation risk trade-offs. *PNAS,* **92**(8): 3507-3510.

Wellborn GA. 1994. Size-biased predation and prey life histories: a comparative study of freshwater amphipod populations. *Ecology,* **75**(7): 2104-2117.

Wilson RS, Franklin CE. 2000. Effect of ontogenetic increases in body size on burst swimming performance in tadpoles of the striped marsh frog, *Limnodynastes peronii*. *Physiol Biochem Zool,* **73**(2): 142-152.

Yamaguchi W, Kondoh M, Kawata M. 2011. Effects of evolutionary changes in prey use on the relationship between food web complexity and stability. *Popul Ecol,* **53**(1): 59-72.

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 214−220 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0214

水生动物的争胜行为

李玉全*，孙 霞

青岛农业大学 海洋科学与工程学院，山东 青岛 266109

摘要：同种动物个体相遇争斗的行为称为争胜行为。这是一种典型的社会行为，广泛存在于各类水生动物中，其目的是确定优势 (统治)地位和从属关系。该文针对争胜行为的表现形式、影响因素、以及发生机制进行了综述，分析了争胜行为的研究现状及发展趋势，以期为水生动物争胜行为的研究提供借鉴和参考，并为促进我国水产养殖业的发展提供理论依据。

关键词：水生动物；争胜行为；原因；机制
中图分类号：Q958.8; Q958.12+2.4 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)02-0214-07

Agonistic behaviors of aquatic animals

Yu-Quan LI *, Xia SUN

College of Marine Science & Engineering, *Qingdao Agricultural University*, *Qingdao* 266109, *China*

Abstract: Aggressive encounters between animals of the same species have been termed as “agonistic behaviors”. Different to aggressions in predator–prey and other nonsocial interactions, agonistic behaviors widely exist in various aquatic animal individuals. To provide references for future research of agonistic behaviors and aquaculture, this article reviewed the expression forms, reasons, and mechanisms of agonistic behavior as well as its research status and development tendencies.

Keywords: Aquatic animal; Agonistic behavior; Reasons; Mechanism

争胜行为是同种动物个体相遇争斗的行为，普遍存在于鱼类、甲壳类等水生动物中，是一种典型的社会行为。其目的是确定优势 (统治)地位和从属关系，胜者将获得更多和更长期的控制关键生态资源的权利以及交配选择权等，失败者将丧失公平分享各种资源的机会。

争胜行为在个体相遇后进行仪式化威胁展示或资源竞争时经常发生 (Rillahan et al, 2011)。许多学者对水生甲壳类动物的争胜行为进行了阐述和分析 (Cenni et al 2010; Moore, 2007; Mowles et al, 2010; Patullo et al, 2009; Pedetta et al, 2010)，其中研究最多的是小龙虾 (*Procambarus clarkii*)和龙虾(*Panulirus* sp.)，其次是寄居蟹 (Paguroidea)，此外，对鼓虾 (*Alpheus heterochaelis)* (Hughes, 1996)、锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) (Laranja et al, 2010)、张口蟹(*Chasmagnathus granulata*)(Pedetta et al, 2010)、招潮蟹 (*Calling crab*)(Rosenberg,1997) 、跳钩虾(*Orchestoidea tuberculata*)(Duarte et al, 2010)、梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) (Innocenti et al, 2003)和淡水虾（*Macrobrachium lar* ）(Seidel et al, 2007) 等物种也有少量报道。也有学者对鱼类的争胜行为进行了研究 (Chen et al, 1996; Hua et al, 1998; Liu, 2002; Zou et al, 2001)，研究对象主要为肉食性鱼类，如暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) (Hua et al, 1998)、大口鲇 (*Silurus meridionalis*) (Zou et al, 2001) 等。

我国在水生动物争胜行为方面的研究较少。对于甲壳类动物仅见 Chen et al (2003,2008)和 Zhang et al (2008)等的少数几篇报道。其中，Chen et al (2003)探讨了日本对虾 (*Penaeus japonicus*)仔虾密度、饵料密度、仔虾规格和光强对同类相残的影响。Chen et al (2008)还研究了人工养殖条件下拟穴

收稿日期：2012-11-27；接受日期：2013-01-12
基金项目：国家自然科学基金 (31101916)；山东省自然科学基金 (ZR2010CM060)；青岛市产学研合作引导计划 (10-3-4-5-6-jch)；青岛农业大学校自然科学基金 (610804)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: jiangfangqian@163.com

青蟹 (*Scylla paramamosain*)大眼幼体的资源可获得性和饥饿程度对同类相残的影响。Zhang et al (2008)描述了凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)和中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)的同类相残、攻击和防御行为。鱼类同类相残现象的研究主要有以下几方面：Hua et al (1998)探讨了饵料密度、养殖密度等对暗纹东方鲀苗种同类相残现象的影响；Zou et al (2001)探讨了不同条件下大口鲇苗种同类相残的现象；Wang & Jiang (2010)从环境和遗传两方面探讨了影响鱼类自残的因素；Liu (2002)研究了肉食性鱼类在养殖生态条件下的同类相残现象，并指出同类相残的原因与放养密度、个体大小差异和饵料丰度密切相关。上述报道虽然涉及水生动物的争胜行为，但主要针对争胜行为的结果(即同类相残)，并且文中也未提及争胜行为这一术语。因此，水生动物争胜行为的研究在我国基本上还属于空白。

国外对鱼类、甲壳类动物争胜行为的研究主要基于自然生态环境，对人工养殖条件下争胜行为的研究很少。Hutchison et al (1998)探讨了甲状腺素对转型期的四种大马哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)争胜行为的影响。Pedetta et al (2010)研究了张口蟹属(*Chasmagnathus*) 螃蟹的个体攻击行为。Ahvenharju & Ruohonen (2007)研究了不同生活环境下北美淡水蟹 (*Signal crayfish*)的争胜行为，并指出在空间窄小且存在个体差异的 “不稳定”的生存环境中，淡水蟹的争斗行为持续时间会延长。国内、外对水生动物争胜行为的研究多集中在个体规格、种群密度、资源获得性及神经化学等对争胜行为的影响，但并未从争胜行为的表现形式、发生原因及产生机制等多方面来系统论述水生动物的争胜行为。本文以研究较多的水生甲壳类动物和鱼类为例，综述水生动物争胜行为的研究进展，旨在为水生动物争胜行为的应用提供借鉴。

1 争胜行为的表现形式

争胜行为从同类个体相遇开始，往往首先遵循严格的仪式化威胁展示，包括听觉的、机械的、视觉的，甚至是化学信号，进行争胜交感，是一种进攻、社交或统治力展示的行为艺术，这通常不会导致致命性后果。随着展示行为的增加，争胜交感会逐渐升级，直到一方撤退，否则争斗强度将进一步增加。相遇争斗过程和强度可以通过一系列行为变化来判断，以淡水小龙虾为例，一般可分为 5 个阶段：(1)见面阶段，这是争斗的第一步，双方没有身体姿态的变化和附肢的额外使用；(2)示威阶段，表现为抬高身体、大螯展开，两者相距一两个身位的距离；(3)拳击阶段，用大螯反复推挤对方，但不企图抱住或厮打，同时用触角频繁抽打对方甲壳；(4)摔跤阶段，不仅用大螯推挤，还努力翻转对方或扭曲对方的大螯；(5)疯狂厮打阶段，无限制使用大螯，主动撕抓对方身体的各个部位，企图损伤或卸去对方的附肢 (Moore, 2007)。疯狂厮打的结果即表现为同类相残 (相咬致残或相互吞食)，分为尾先型(type Ⅰ，捕食者先摧残被捕食者的尾部)和头先型(type Ⅱ，捕食者先摧残被捕食者的头部)两种(Kestemont et al, 2003)。争斗过程中一方主动撤退(相距两个身位以上)意味着战争结束，其后获胜方将连续发动攻击，直到对手总是选择撤退，则视为双方正式确立从属关系(Huber et al, 2001)。

与淡水龙虾的争斗结果相似， Hecht & Appelbaum (1988)对胡鲇属自残的调查研究也发现头先型和尾先型两种同类相残现象，并指出这两种现象是根据捕食者口宽和被捕食者头宽的关系划分的，同时，还指出两种同类相残的发生时间也有先后。在胡鲇属（*Clarias*）养殖过程中，尾先型发生在依赖外源性营养 3.5 d 后，头先型发生在～25 d 后，胡鲇属的自残最终彻底转变为头先型；鲤(*Cyprinus carpio*)的尾先型自残则发生在依赖外源性营养 9～15 d 后，且这种类型的自残持续占据优势，18 d 后捕食者全长＞21 mm 时才出现头先型自残。

2 影响争胜行为发生的因素

2.1 内部因素

2.1.1 遗传关系

群居鱼类通常表现出识别亲缘关系的能力, 最近有关研究发现鲑(*Oncorhynchus tschawytscha*)、鳟 (*Salmo playtcephalus*)鱼类的受化学信息调节的亲缘识别机制能有效抑制鱼类的争胜行为(Wang & Jiang, 2010)。丽鱼属（*Cichla*）(Mckaye & Barlow, 1976)、胎鳉属（*Poecilia*）(Loekle et al, 1982)和鳉属 *Cyprinodon macularius californiensis* (Loiselle, 1983) 因具备亲缘识别能力，故子代自残最低，其中丽鱼科通过识别本种特有的黑黄相间的眼睛来有效抑制同龄之间的自残 (Zaret, 1977)。

Bovbjerg (1956)也曾研究过遗传关系对甲壳类动物争斗的影响，并表明在两两争斗的情况下，有着较大型体或螯的小龙虾更容易获胜并取得统治地位。Dissanayake et al (2009)对青蟹（*Scylla serrata*）的研究也表明生理状况是决定青蟹个体争斗结果的主要因素。

2.1.2 个体大小差异

大量研究表明，个体大小差异对水生动物的争胜行为而言，即使不是决定因素，也是一个很重要的因素。对暗纹东方鲀稚鱼的自残实验观察发现，若将大小相同的稚鱼饲养在一起则不易产生自残或自残现象很轻，饱食状态下大小相同的稚鱼自残率＜3%，即使饥饿 1~2 d，自残率仅提高至 6%~16%；但若将大小不同的稚鱼混养在一起，即使在饵料充足的条件下，自残率也达 50%，若停食 1~2 d，自残率则＞85% (Chen et al,1996)。Giles et al (1986)对白斑狗鱼 (*Esox lucius*) 鱼苗的自残实验、Van Damme et al (1989)对大西洋鳕 (*Gadus morhua* L.)幼鱼的实验以及 Dou et al (2000)对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼的实验也均证实了这种现象。Chen et al (2003)的研究也显示日本对虾仔虾的相残更多地发生在规格差异较大的个体间，不同规格混养将加剧仔虾的相残。Thomas et al (2003)在对岩龙虾（*Jasus edwardsii*）的研究也阐明较小个体更容易被残食，尤其是在饲料定量标准低的情况下，该现象更加严重。

2.1.3 食性

Pienaar (1990)曾指出，鲫鱼(*Carassius auratus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)和红腹罗非鱼(*Tilapia zilli*)无自残和攻击的基础在于它们主要以植物为食。有关文献报道，自残在肉食性鱼类中很普遍，肉食性鱼类在早期生活中具有大的口裂和发育完善的牙齿，使它们能够捕食到相当大的猎物，从而加强了自残攻击性 (Bengtson et al,1999)。

2.1.4 性别和生殖状态

在有些甲壳类动物中，个体性别以及雌、雄性生殖状态也可以在一定程度上影响其争斗水平。Capelli & Hamilton (1984)、Peeke et al (1995)以及 Figler et al (1999)就曾指出与雌性小龙虾相比，雄性小龙虾更容易占据主导地位。Moore et al (1997)的研究也发现，雄、雄之间的争斗比雌、雄和雌、雌之间的争斗更加强烈。对于生殖状态对争斗结果的影响，Berril & Arsenault (1984)的研究就证明了这一点，他们认为，螯虾科的成熟体小龙虾有两种交替的生殖形态，分别是有生殖能力的形态 I 和不具有生殖能力的形态 II，Guiasu & Dunham (1998)也发现雄性形态 I 比雄性形态 II 更容易占据主导地位。

2.1.5 前期社会交感 (previous social experience)

前期社会交感也是影响争斗行为的一个重要因素。Zulandt et al (1999)的研究表明，那些没有任何交感经历的只有 7 d 大小的小龙虾开始出现互动，但那时的互动是天真而幼稚的。而对于那些曾经有过交感经历的小龙虾，之前的社会经验可以塑造其争斗水平甚至影响最终的争斗结果。Daws et al (2002)认为，之前的社会经历可能具有两种相对的结果，即曾经经常取胜的小龙虾在遇到下一个对手时取胜的机会可能更大，相反，曾经经常失败的小龙虾在下次遇到对手时则更有可能再次战败。

2.1.6 神经化学因子

争胜行为还受到机体神经化学，尤其是 5-羟色胺 (5-HT)、章鱼胺 (OA)和多巴胺 (DA)的影响 (Kravitz, 1988; Sneddon et al, 2000)。Yeh et al (1997)对淡水小龙虾的研究表明，小龙虾行为的可塑性(即其是处于侵略还是下属地位)会影响其神经化学因子。也就是说，小龙虾是占统治地位还是处于下属地位，会改变其 5-HT 神经化学。另外，一些神经化学的变化也会影响小龙虾的一系列社会行为。Fletcher & Hardege (2009)的研究也表明，水生动物的个体行为往往依赖多种复杂的化学信号。

2.2 环境因素

2.2.1 饵料密度

饥饿对水生生物的争斗有着不可忽视的作用。Tang et al (1985)在革胡子鲇 (*Clarias lazera*)自残实验中很清楚地观察到了自残以不投饵为甚。Hua et al (1998)对暗纹东方鲀苗种自残的研究、Hu et al (2002)对怀头鲇 (*Silurus soldatovi*)的苗种实验以及 Zou et al (2001)对鲇苗种的自残现象观察也都发现饵料不足是自残的主要原因。Chen et al (2003)的研究结果显示，日本对虾仔虾的相残率随饵料密度的提高而下降，特别是不同规格混养的仔虾饥饿时的相残率比投饵时高～1 倍，也说明了饵料密度与日本对虾相残存在着较为直接的关系。

2.2.2 饵料种类

同一种生物投喂不同种类的饵料时，其争胜行为也会受到影响。Hecht & Pienaar (1993)等研究发现，鲇 (*Silurus* spp.)和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)

养殖过程中投喂鲜活饵料比只投喂人工饵料的自残现象少得多。Wang & Jiang (2010)的研究也发现，集约化养殖的大西洋鳕和条斑鲈（*Morone saxatilis*）由活饵料转化为配合饲料时，死亡率和自残率均提高。

若饵料适口性较差或缺乏必需营养成分，尤其是鱼类蛋白质或某些微量元素时，也能导致自残的发生。同时，饵料质量差、生态环境不适宜，也都可能造成鱼类紧张而发生自残 (Wang & Jiang, 2010)。

2.2.3 生存空间

Giles et al (1986)认为密度过大使鱼类对饵料和溶氧等因子的竞争加剧，同时捕食鱼类和被捕食鱼类两者相遇的机会增加，从而使自残的机率增加。Hecht & Pienaar (1993)对虹鳟和鲤的实验同样支持上述结论。Hu et al (2002)对怀头鲇苗种的实验也表明，密度越大成活率越低。Chen et al (2008)对拟穴青蟹大眼幼体相残与资源可获得性和饥饿关系的研究显示，大眼幼体密度在 10～40 ind/L 范围内时，空间可获得性的减小虽未导致相残死亡率的显著提高，但肢

残率却有所升高，表明争斗强度虽未增加但争斗频度增加。Hazlett (1968)的研究也显示了类似的结果。

2.2.4 光照

光照可以影响水生动物的争胜行为。对于避光性的鱼类，光照可以促进鱼类攻击甚至自残的发生。Pienaar (1990)对避光性的胡鲇属仔稚鱼的研究表明，持续光照条件下即使饵料充足，幼鱼寻找饵料和游泳活力均减弱，加剧了攻击性和自残水平，且休息阶段时长增加，而在黑暗条件下的情况恰恰相反。对于趋光性鱼类，例如大眼梭鲈 (*Lucioperca lucioperca*)和鲑，光照可以抑制自残的发生。养殖中发现，光照能使大眼梭鲈稚鱼分散，从而减少自残；而在黑暗条件下，这类鱼容易聚集在底部，从而增加了自残 (Wang & Jiang, 2010)。

Chen et al (2003)对日本对虾仔虾相残的实验研究表明，较明亮光线或较长时间光照具有抑制日本对虾仔虾相残的作用。推测原因应和日本对虾仔虾喜暗的习性有关，弱的光线有利于日本对虾仔虾的生长 (Li et al, 2001)，即在暗环境下日本对虾仔虾活动性较强，因此相残也较为激烈。

2.2.5 水体浑浊度

水生动物的争胜行为也受水体浑浊度的影响。清澈的水就如同持续的光照，且此时也无躲避物可藏身，因此，攻击性和自残率加强。Bristow et al (1996)发现大眼狮鲈 (*Larval walleye*)稚鱼在混浊度较高的水体中可有效避免相残的发生。另外，Li (1992)在黑鲷 (*Sparus macrocephalus*)中也得出相似的结论，稚鱼依靠视觉捕食，降低水体的透明度可避免或减少相残。

综上所述，水生动物的争胜行为是由各种错综复杂的因素综合引起的。至少，生活环境恶劣、个体间大小悬殊、饵料缺乏以及生存空间狭小等都有可能导致攻击甚至相残。另外，高密度、封闭的人工饲养方式会导致种群拥挤、栖息水体恶化及环境压力增大，从而加重争胜行为发生的频率和程度。然而，争胜行为究竟是生物本身的一种习性，还是由不适宜的环境造成的。为什么有些生物争胜行为现象极其明显甚至经常发展为相残，而有些生物却能和谐共处。这些问题都需要进一步研究解释。

3 争胜行为发生的机制

3.1 种内竞争作用

水生动物是繁殖力最高的动物群体，一次产卵数百、数千或数万，甚至上百万。幼体孵出后，除了要经受各种恶劣的自然环境因素考验外，还会遭遇食料不足等不利情况，同时，鱼类、甲壳类成体的放养密度一般也都超过了自然种群密度。种种不利因素都会导致他们在获取生物资源时发生攻击甚至同类相残。密度调节作用表现为强壮、较大的个体攻击或吞食较弱、较小的个体，种群保护作用则解释为他们以牺牲一部分同类个体来换得自身种群的延续。从生物学角度来看，这种种内竞争的淘汰方式具有选优、保种的积极效果 (Liu, 2002)。

3.2 社会序位制

有关同种水生动物种群内部相斥、相容的研究资料所见不多，但通过观察，同一种群内经过一段时间的竞争，密度得到调整，竞争渐趋缓和，个体间能和平共处，这说明种群内可能存在着某种序位制。个体在种群中的序位依据体质强弱、个体大小及共处时间长短等确立。以鱼类为例，经过稚鱼阶段的激烈竞争和淘汰后存活下来的个体之间确立了某种平衡，或形成了均势，但是，当有外来个体进入时，这种平衡便被打破，同类相残现象又会发生。Unprasert et al (1999)对沟鲶 (*Ictalurus punctatus*)

的研究发现，两种不同规格的鱼种同时放养时，一般不会发生相残现象，但当水体中有新个体进入时，原有个体会攻击、吞食新入个体，造成鱼种大量死亡。Hua et al (1998)对暗纹东方鲀的研究发现，较小个体加入已有大个体的池中时，会发生剧烈的相残现象，这有可能也是基于相似的原因 (Bengtson et al, 1999; Bristow et al, 1996; Ward Francis & Bengtson,1999)。

4 问题与展望

近年来，随着水产养殖业的逐步发展，以及人们对养殖品种同类相残的重视，对水生动物争胜行为的研究已经从经验认识深入到系统的实验研究，虽然从总体上已经取得了较多的成果，但是，仍然有很多相关研究有待加强。

截至目前，对于水生动物争胜行为发生的机制主要有两种看法：(1)，水生动物在不同发育阶段发生的个体间行为上的干涉作用是一种种内竞争行为；(2)社会序位制反应。这两种看法虽然都能对一些现象进行解释，但其争斗的发生机制仍无定论。

关于水生动物争胜行为的发生原因，已有很多研究报道。一般认为，个体差异大、饵料不足及放养密度高等因素都易导致水生动物发生争斗甚至相残。但何为决定因素，众说纷纭，难以确定 (Wang & Jiang, 2010)。另外，有些鱼类一生都不发生同类相残，而有些鱼类 (特别是肉食性凶猛鱼类) 从仔鱼期就开始发生争斗甚至相残，其原因究竟是由遗传还是后天恶劣环境造成。为什么有些水生动物争斗现象极其突出甚至相残，而有些则完全不发生相残等问题都需进一步研究解释 (Zou et al, 2001)。

在研究影响水生动物争胜行为的因素时，就曾提到，放养密度过大易导致水生动物发生争斗甚至相残。因此, 在研究水生动物相残现象时, 寻找在饱食情况下发生相残的临界密度具有实际意义，既可有效预防养殖动物同类相残，又能提高水产养殖生产力 (Liu,2002)。

应该指出的是，一方攻击或追逐另一方但并不造成伤亡的攻击行为，与能引起被攻击一方伤亡的攻击行为不可混为一谈。如河豚（*Takifugu* sp.）在5～6 mm 时，常见一尾追随另一尾，并用吻轻捅对方的现象，但若被尾追者稍作避让，尾追者便不再追随。虽然有些文献认为这也是一种相残行为，但这种行为并不引起鱼苗的伤害，可能不应视为相残行为，而是一种包含游戏成份在内的攻击行为。 在脊椎动物的早期发育阶段，常可看到幼小动物之间的追逐玩耍行为，而有时一方追击另一方时，也会发生撕咬现象。因此，究竟什么时候的攻击行为才是相残行为，有待进一步研究揭示 (Chen et al, 1996)。

参考文献：

Ahvenharju T, Ruohonen K. 2007. Agonistic behaviour of signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana) in different social environments: Effect of size heterogeneity on growth and food intake [J]. *Aquaculture,* **271**(1-4): 307-318.

Bengtson DA, Lydon L, Ainley JD. 1999. Green-water rearing and delayed weaning improve growth and survival of summer flounder . *North American Journal of Aquaculture,* **61**(3): 239-242.

Berril M, Arsenault M. 1984. The breeding behaviour of a northern temperate orconectid crayfish, *Orconectes rusticus*. *Animal Behaviour,* **32**(2): 333-339.

Bovbjerg RV. 1956. Some factors affecting aggressive behavior in crayfish. *Physiological Zoology,* **29**: 127-136.

Bristow BT, Summerfelt RC, Clayton RD. 1996. Comparative performance of intensively cultured larval walleye in clear, turbid, and colored water. *The Progressive Fish-Culturist,* **58**(1): 1-10.

Capelli GM, Hamilton PA. 1984. Effects of food and shelter on aggressive activity in the crayfish *Orconectes rusticus* (Girard) . *Journal of Crustacean Biology,* **4**(2): 252-260.

Cenni F, Parisi G, Gherardi F. 2010. Effects of habitat complexity on the aggressive behaviour of the American lobster (*Homarus americanus*) in captivity. *Applied Animal Behaviour Science,* **122**(1): 63-70.

Chen XL, Lin QW, Li SJ, Wang GZ, Ai QX, Li BL, Lin T. 2003. Observations and studies on the cannibalism among post larvae of Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Journal of Xiamen University (Natural Science),* **42**(3): 358-361. [陈学雷, 林琼武, 李少菁, 王桂忠, 艾青香, 李丙林, 吝涛. 2003. 日本对虾仔虾相残的实验研究. 厦门大学学报(自然科学版), **42**(3): 358-361.]

Chen XL, Li SJ, Wang GZ, Lin QW, Ye HH, Ai QX. 2008. Study on relationship between cannibalism and resource availability/starvation of mud crab, *Scylla paramamosain* Megalopae. *Journal of Xiamen University (Natural Science),* **47**(1): 99-103. [陈学雷, 李少菁, 王桂忠, 林琼武, 叶海辉, 艾青香. 2008. 拟穴青蟹大眼幼体相残与资源可获得性和饥饿关系的研究. 厦门大学学报(自然科学版), **47**(1): 99-103.]

Chen YF, Qian LF, Hua YY. 1996. Research status of fish cannibalism [J]. *Journal of Aquaculture,* (3): 21-24. [陈亚芬, 钱林峰, 华元渝. 1996. 鱼类同类相残现象的研究现状. 水产养殖, (3): 21-24.]

Daws AG, Grills J, Konzen K, Moore PA. 2002. Previous experiences alter

the outcome of aggressive interactions between males in the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology,* **35**(3): 139-148.

Dissanayake A, Galloway TS, Jones MB. 2009. Physiological condition and intraspecific agonistic behaviour in *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda) . *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,* **375**(1-2): 57-63.

Dou SZ, Seikai T, Tsukamoto K. 2000. Cannibalism in Japanese flounder juveniles, *Paralichthys olivaceus*, reared under controlled conditions. *Aquaculture,* **182**(1-2): 149-159.

Duarte C, Jaramillo E, Contreras H, Acuňa K. 2010. Cannibalism and food availability in the talitrid amphipod *Orchestoidea tuberculata*. *Journal of Sea Research,* **64**(3): 417-421.

Figler MH, Cheverton HM, Blank GS. 1999. Shelter competition in juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*): the influences of sex differences, relative size, and prior residence. *Aquaculture,* **178**(1-2): 63-75.

Fletcher N, Hardege JD. 2009. The cost of conflict: agonistic encounters influence responses to chemical signals in the European shore crab. *Animal Behaviour,* **77**(2): 357-361.

Giles N, Wright RM, Nord ME. 1986. Cannibalism in pike fry, *Esox lucius* L.: some experiments with fry densities. *Journal of Fish Biology,* **29**(1): 107-113.

Guiasu RC, Dunham DW. 1998. Inter-form agonistic contests in male crayfishes, *Cambarus robustus* (Decapoda, Cambaridae). *Invertebrate Biology,* **117**(2): 144-154.

Hazlett BA. 1968. Effects of crowding on the agonistic behavior of the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Ecology,* **49**(3): 573-575.

Hecht T, Appelbaum S. 1988. Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *Claias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. *Journal of Zoology,* **214**(1): 21-44.

Hecht T, Pienaar AG. 1993. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *Journal of the World Aquaculture Society,* **24**(2): 246-261.

Hu GH, Sun GH, Gu Q, Liu Y, Zhang HW, Li G. 2002. Self-mutilation cause analysis and countermeasures of *Silurus soldatovi* fingerlings. *China Fisheries,* (7): 47. [胡国宏, 孙广华, 顾权, 刘英, 张红伟, 李刚. 2002. 怀头鲇苗种自残现象的原因分析及对策. 中国水产, (7): 47.]

Hua YY, Chen YF, Qian LF. 1998. Studies on cannibalism among fries of *Takifugu obscurus*. *Acta Hydrobiologica Sinica,* **22**(2): 195-197. [华元渝, 陈亚芬, 钱林峰. 1998. 暗纹东方鲀苗种同类相残的研究. 水生生物学报, **22**(2): 195-197.]

Huber R, Panksepp JB, Yue Z, Kelago A, Moore P. 2001. Dynamic interactions of behavior and amine neurochemistry in acquisition and maintenance of social rank in crayfish. *Brain, Behavior and Evolution,* **57**(5): 271-282.

Hughes M. 1996. The function of concurrent signals: visual and chemical communication in snapping shrimp. *Animal Behaviour,* **52**(2): 247-257.

Hutchison MJ, Iwata M. 1998. Effect of thyroxine on the decrease of aggressive behaviour of four salmonids during the parr-smolt transformation. *Aquaculture,* 168(1-4): 168-175.

Innocenti G, Pinter N, Galil BS. 2003. Observations on the agonistic behavior of the swimming crab *Charybdis longicollis* Leene infected by the rhizocephalan barnacle *Heterosaccus dollfusi* Boschma. *Canadian Journal of Zoology,* **81**(1): 173-176.

Kestemont P, Jourdan S, Houbart M, Mélard C, Paspatis M, Fontaine P, Cuvier A, Kentouri M, Baras E. 2003. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture,* **227**(1-4): 333-356.

Kravitz EA. 1988. Hormonal control of behavior: amines and the biasing of behavioral output in lobster. *Science,* **241**(4874): 1775-1781.

Laranja JLQ Jr, Quinitio ET, Catacutan MR, Coloso RM. 2010. Effects of dietary L-tryptophan on the agonistic behavior, growth and survival of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture,* **310**(1-2): 84-90.

Li CW. 1992. Observations of water turbidity and mutua cannibalism of *Sparus macrocephlus* juveniles. *Marine Fisheries,* (2): 58-59. [李存戊. 1992. 水的浑浊度与黑鲷稚鱼互残现象的观察. 海洋渔业, (2): 58-59.]

Li RY, Chen JK, Jiang HL, Yu SL, Wang JF. 2001. Experiments on temperature suitable for postlarva of *Penaeus japonicus*. *Fisheries Science,* **20**(3): 17-18. [李润寅, 陈介康, 姜洪亮, 于深礼, 王建芳. 2001. 日本对虾仔虾的温度适宜性实验研究. 水产科学, **20**(3): 17-18.]

Liu HM. 2002. Studies on the cannibalism of carnivorous fish in the breeding ecological condition. *Aquatic Science and Technology Information,* **29**(6): 261-263. [刘红梅. 2002. 肉食性鱼类在养殖生态条件下同类相残现象的研究. 水产科技情报, **29**(6): 261-263.]

Loekle DM, Madison DM, Christian JJ. 1982. Time dependency and kin recognition of cannibalistic behavior among poeciliid fishes. *Behavioral and Neural Biology,* **35**(3): 315-318.

Loiselle PV. 1983. Filial cannibalism and egg recognition by males of the primitively custodial teleost *Cyprinodon macularius californiensis* Girard (Atherinomorpha*:* Cyprinodontidae). *Ethology and Sociobiology,* **4**(1): 1-9.

Mckaye KR, Barlow GW. 1976. Chemical recognition of young by the Midas cichlid, *Cichlasoma citrinellum*. *Copeia,* (2): 276-282.

Moore PA. 2007. Agonistic behavior in freshwater crayfish-the influence of intrinsic and extrinsic factors on aggressive encounters and dominance. *In*: Duffy JE, Thiel M. Evolutionary Ecology of Social and Sexual Systems-Crustaceans as Model Organisms. New York: Harvard University Press, 90-114.

Moore PJ, Reagan-Wallin NL, Haynes KF, Moore AJ. 1997. Odour conveys status on cockroaches. *Nature,* **389**(6646): 25.

Mowles SL, Cotton PA, Briffa M. 2010. Whole-organism performance capacity predicts resource-holding potential in the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Animal Behaviour,* **80**(2): 277-282.

Patullo BW, Baird HP, Macmillan DL. 2009. Altered aggression in different sized groups of crayfish supports a dynamic social behaviour model. *Applied Animal Behaviour Science,* **120**(3-4): 231-237.

Pedetta S, Kaczer L, Maldonado H. 2010. Individual aggressiveness in the crab *Chasmagnathus*: influence in fight outcome and modulation by serotonin and octopamine. *Physiology and Behavior,* **101**(4): 438-445.

Peeke HVS, Sippel J, Figler MH. 1995. Prior residence effects in shelter defense in adult signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* (Dana)), results in same- and mixed-sex dyads. *Crustaceana,* **68**(7): 873-881.

Pienaar AG. 1990. A Study of Coeval Sibling Cannibalism in Larval and Juvenile Fishes and Its Control under Culture Conditions. Masters thesis, Rhodes University, Grahamstown, South Africa.

Rillahan C, Chambers MD, Howell WH, Watson WH. 2011. The behavior of cod (*Gadus morhua*) in an offshore aquaculture net pen. *Aquaculture,* **310**(3-4): 361-368.

Rosenberg MS. 1997. Evolution of shape differences between the major and minor chelipeds of *Uca pugnax* (Decapoda: Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology,* **17**(1): 52-59.

Seidel RA, Schaefer RL,Donaldson TJ. 2007. The role of cheliped autotomy in the territorial behavior of the freshwater prawn *Macrobrachium lar*. *Journal of Crustacean Biology,* **27**(2): 197-201.

Sneddon LU, Taylor AC, Huntingford FA, Watson DG. 2000. Agonistic behaviour and biogenic amines in shore crabs *Carcinus maenas*. *The Journal of Experimental Biology,* **203**(3): 537-545.

Tang ZY, Huang DG, Chen SY, Ye X. 1985. Observations to the Clarias kill each other and the killing of the family fish. *Freshwater Fisheries,* (4): 16-18. [唐彰元, 黄道根, 陈水英, 叶星. 1985. 革胡子鲶的自相残杀及其对家鱼残杀的初步观察. 淡水渔业, (4): 16-18.]

Thomas CW, Carter CG, Crea BJ. 2003. Feed availability and its relationship to survival, growth, dominance and the agonistic behaviour of the southern rock lobster, *Jasus edwardsii* in captivity. *Aquaculture,* **215**(1-4): 45-65.

Unprasert P, Taylor JB, Robinette HR. 1999.Role of stocking sequence on survival of fingerling Channel *Catfish cultured* in mixed - size populations. *North American journal of Aquaculture*, 61 (3): 235-238.

Van Damme P, Appelbaum S, Hecht T. 1989. Sibling cannibalism in koi carp, *Cyprinus carpio* L., larvae and juveniles reared under controlled conditions. *Journal of Fish Biology,* **34**(6): 855-863.

Wang DM, Jiang ZQ. 2010. Studies on factors affecting the fish of self-mutilation. *Journal of Anhui Agricultural Sciences,* **38**(14): 7395-7397, 7422. [王东梅, 姜志强. 2010. 影响鱼类自残因子的研究. 安徽农业科学, **38**(14): 7395-7397, 7422.]

Ward Francis A Jr, Bengtson DA. 1999. Partitioning of fish and diet selection as methods for the reduction of cannibalism in *Paralichthys dentatus* Larviculture. *Journal of the World Aquaculture Society,* **30**(3): 302-310.

Yeh SR, Musolf BE, Edwards DH. 1997. Neuronal adaptations to changes in the social dominance status of crayfish. *The Journal of Neuroscience,* **17**(2): 697-708.

Zaret TM. 1977. Inhibition of cannibalism in *Cichla ocellaris* and hypothesis of predator mimicry among South American fishes. *Evolution,* **31**(2): 421-437.

Zhang PD, Zhang XM, Li J, Meng QW. 2008. Observation of behavior in *Fenneropenaeus chinensis* and *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Journal of Fisheries of China,* **32**(2): 223-227. [张沛东, 张秀梅, 李健, 孟庆武. 2008. 中国明对虾、凡纳滨对虾仔虾的行为观察. 水产学报, **32**(2): 223-227.]

Zou GW, Luo XZ, Pan GB. 2001. Studies on the cannibalism among *Silurus meridionalis* larvae. *Journal of Fishery Sciences of China,* (2): 55-58. [邹桂伟, 罗相忠, 潘光碧. 2001. 大口鲇苗种同类相残的研究. 中国水产科学, (2): 55-58.]

Zulandt Schneider RA, Schneider RWS, Moore PA. 1999. Recognition of dominance status by chemoreception in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. *Journal of Chemical Ecology,* **25**(4): 781-794.

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 221−227 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0221

基于全基因组正选择基因揭示大狐蝠和小棕蝠功能分化分子机制

曾燕妮[1,3]，沈永义[2,*]，张亚平[3,4,*]

1. 华东师范大学 生命科学学院，上海 200062；
2. 厦门大学 生命科学学院，福建 厦门 361005；
3. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室，云南 昆明 650223；
4. 云南大学 生物资源保护与利用实验室，云南 昆明 650091

摘要：小棕蝠 (*Myotis lucifugus*) 和大狐蝠 (*Pteropus vampyrus*)在生理和行为上有诸多差异，应被诉诸于分子水平并加以系统探讨。该研究对包括小棕蝠和大狐蝠在内的 7 个哺乳动物全基因组同源编码序列进行了高质量比对，使用比对序列进行了分别以两个蝙蝠枝为前景枝的全基因组水平选择压力分析，并对两种蝙蝠中的正选择基因进行了富集聚类分析。结果表明，在小棕蝠枝受到正选择的基因数高于大狐蝠枝；两种蝙蝠中独立受到正选择的基因富集于不同的功能类别；且正选择基因的富集差异与小棕蝠和大狐蝠在免疫、运动协调、能量代谢和感觉器官发育等关键生物学功能方面的分化大体吻合。

关键词：小棕蝠; 大狐蝠; 正选择; 适应性性进化; 基因组
中图分类号：Q959.833 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0221-07

Genome-wide scan reveals the molecular mechanisms of functional differentiation of *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus*

Yan-Ni ZENG[1,3], Yong-Yi SHEN[2,*], Ya-Ping ZHANG[3,4,*]

1. *School of Life Science, East China Normal University, Shanghai* 200062, *China*;
2. *State Key Laboratory of Cellular Stress Biology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen* 361005, *China*;
3. *State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223, *China*;
4. *Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-resources, Yunnan University, Kunming* 650091, *China*

Abstract: The physiological and behavioral differences between *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus* should be attributed to molecular mechanisms and deserve intensive investigation. We conducted genome-wide scan for coding sequences from the orthologue genes of seven mammalian species. Selection analyses were carried out by setting the branches leading to *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus* as foreground branches, respectively. Enrichment analyses were conducted for positively selected genes. Our results indicated that more genes exhibited positive selection in *Myotis lucifugus* than that in *Pteropus vampyrus*. The positively selected genes of the two species were enriched in different functions. The differences between *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus* represented their differentiation in biological functions, especially the functions of immunity, motor ability, energetic metabolism and sensory organ development.

Keywords: *Myotis lucifugus*; *Pteropus vampyrus*; Positive selection; Adaptive evolution; Genome

小棕蝠隶属鼠耳蝠属 (*Myotis*)，是北美洲最常见的蝙蝠物种之一 (Fenton & Barclay, 1980)。具食虫性，其常见食物包括飞蛾、胡蜂、蜜蜂及蚊子等 (Belwood & Fenton, 1976)。由于这些昆虫多邻水而居，故小棕蝠栖息地也多近水 (Fenton & Bell, 1979)。小棕蝠的眼睛多已退化，主要使用回声定位

收稿日期：2013-03-21；接受日期：2013-04-11
基金项目：国家自然科学基金 (31172080，91231202)
*通信作者 (Corresponding authors)，E-mail: shenyy@xmu.edu.cn; zhangyp@mail.kiz.ac.cn

系统来探测环境和捕食 (Schnitzler & Kalko, 1998; Schnitzler & Kalko, 2001)，发出的声音为持续 1～5 ms 的高强度 FM 调频信号 (frequency modulated)，扫描速率为 80～40 kHz，且在不同的飞行和捕食状态下，其发出声波的频率和扫描速率均不同。普通飞行状态下发声频率为～20 次/s，而在追逐猎物时频率可提高到 200 次/s (Fenton & Barclay, 1980)。小棕蝠的基因组测序 (2X)为哺乳动物基因组计划 Mammalian Genome Project 的一部分，随后较高质量的基因组测序也已完成 (7X)。

大狐蝠隶属狐蝠属，多分布于东南亚，是世界上最大的蝙蝠物种之一 (Kunz & Jones, 2000; Simmons et al, 2005)。栖息于原始森林、红树林等，为食植性，常见食物为花、花蜜和果实 (Lēkagul & McNeely, 1977; Payne et al, 1985)。与其他旧大陆蝙蝠一样，大狐蝠缺乏回声定位能力，主要依靠嗅觉和视觉来搜寻食物 (Acharya et al, 1998; Sánchez et al, 2006)。暗视觉 (scotopic vision)是包括大狐蝠在内的多数旧大陆果蝠适应夜行性生活中探测环境和捕食需求的独特方式。使用暗视觉，蝙蝠能在弱光环境下接收外来光信号。为了提高光吸收能力，旧大陆果蝠的眼睛往往比使用回声定位的蝙蝠更大，功能更强 (Phillips, 2000)。大狐蝠的基因组测序属于哺乳动物基因组计划的一部分，2.63X 的基因组已被测序完成。

传统的适应性进化研究方法，如正选择 (positive selection)分析，可以和基因组规模的数据比对结合，从而发现与适应性性状相关的基因。比对这两个蝙蝠物种的基因组信息可帮助科学家阐明一些有关蝙蝠共同性状的生物学问题，例如，通过比对包括两种蝙蝠和海豚在内的全基因组，研究者从分子角度揭示了海豚和蝙蝠祖先在新的运动方式进化过程中发生的能量代谢适应性进化现象 (Shen et al, 2012)。同理，小棕蝠和大狐蝠的基因组数据也为我们研究以两者为代表的食果和食虫蝙蝠之间的功能分化提供了有利条件。全基因组范围的比对和选择压力分析，使系统揭示两种蝙蝠间因食性及感觉系统等功能分化而产生的适应性进化机制成为了可能。本研究利用小棕蝠和大狐蝠的基因组数据，使用基因编码序列进行了多个哺乳动物间的高质量全基因组比对，在两种蝙蝠内进行了正选择信号探测，并对两种蝙蝠中受到正选择的基因分别进行了功能注释和富集聚类，以此研究两种蝙蝠在适应性进化方向上的差异。

1 材料与方法

1.1 数据搜集和比对

由 ENSEMBL 数据库(version 64)下载小鼠 (*Mus musculus*)、人类 (*Homo sapiens*)、马 (*Equus caballus*)、牛 (*Bos taurus*)、海豚 (*Tursiops truncatus*)、大狐蝠 (*Pteropus vampyrus*)和小棕蝠 (*Myotis lucifugus*)等 7 个哺乳动物间的所有一对一同源 (one2one orthologues) 编码序列 (coding sequences)。使用软件 prank (http://www.ebi.ac.uk/goldman-srv/prank/ prank/)对每个基因在 7 个物种间进行多物种比对。在比对中，若一个基因在某一物种中有多种转录形式，则选用最长的一条。随后，对比对后的序列进行序列相似度分析，并基于此，在不影响编码框的前提下删除比对质量差的区域。具体步骤如下：(1) 删除比对中的“gap”和“N”的区域；(2) 使用 15 bp 的滑动窗口按照一个密码子单位在每个比对序列中进行滑动，对于每个滑动窗口，计算两两物种间的序列相似度，若最低两两相似度<7/15，则删去整个滑动窗口，继续滑动；(3) 经过删减窗口步骤后，如果比对序列长度<100 bp，则弃用整个比对序列。

1.2 正选择分析

使用 PAML4 软件的 Codeml 程序进行正选择检验，引导树采用具有高支持度的系统发育树 (Murphy, 2001)。分支−位点模型 (branch-site model: test2: M2a VS M2 null. M2a：model=2, NSsites=2, fix_omega=0)被用来判断一个基因是否在某一个指定枝上受到正选择。通过计算卡方值来进行似然率检验,得到 *P* 值后，使用 FDR 方法进行多重校正 (Benjamini & Hochberg, 1995)，即，从小到大排列所有基因 *P* 值，得到每基因的序号，最终计算得到多重校正后的 *P* 值 (FDR 值)(计算公式：*P*×总基因数/该基因序号)。此外，对于每个正选择基因，如果某一氨基酸位点的 BEB 后验概率≥0.9, 则认为该位点在该基因的该枝上受到正选择。

1.3 功能注释和富集分析

以人类 ENSEMBL 基因号 (version 64) 作为每一组 orthologue 序列的标签，进行下游注释。在线注释工具 DAVID 被用于功能注释和富集聚类。即，每个 ENSEMBL 基因都被注释到不同的 Go-term (Go ontology)和 KEGG 通路上。Fisher 精确检验被

用于判断属于某一注释类别的基因在给定的基因列表内是否显著富集 (*P*≤*0.1*)。两种蝙蝠正选择基因的富集聚类结果使用在线 Gene-Ontology 注释画图工具 REViGO 进行分别呈现 (Supek et al, 2011)，并在工具 WEGO 内进行种间比较(Ye et al, 2006)。

2 结 果

2.1 小棕蝠和大狐蝠基因组中受到正选择的基因

对 11 267 个具有高质量 orthologue 比对序列的基因，使用分支−位点模型，分别以小棕蝠 (branch b)和大狐蝠 (branch a)为前景枝进行全基因正选择扫描，引导树为系统发育树 (图 1)。在小棕蝠中，共 835 个基因 (PSs)受到正选择(*P*≤0.05)，其中，625 个基因的 1 380 个位点 (PSSs)显著受到正选择(*BEB*≥0.9)，多重校正后，97 个基因在 *FDR=0.05* 水平显著 [图 2，附表 1 （本刊网站 Supporting info）]。在大狐蝠中，共 592 个基因受到正选择 (*P*≤0.05)，其中，424 个基因的 794 个位点显著 (*BEB*≥0.9)，41 个基因在 *FDR*=0.05 水平显著 (图 2，附表 2（本刊网站 Supporting info）)。共 62 个基因在小棕蝠和大狐蝠为前景枝时都受到正选择，773 和 530 个基因分别在小棕蝠和大狐蝠中独立受到正选择 (在另一蝙蝠种不受正选择)。

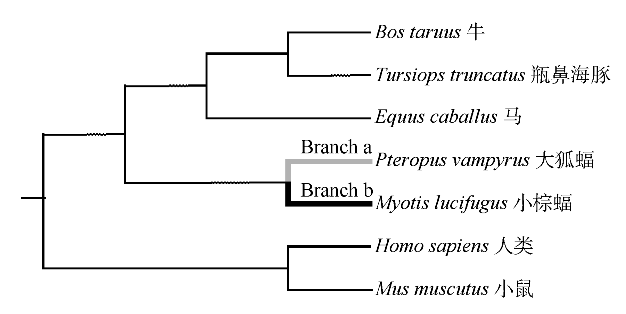


图 1 正选择计算中使用的系统发育树及前景枝
Figure 1 Phylogenic trees and foreground branches used in positive selection analysis

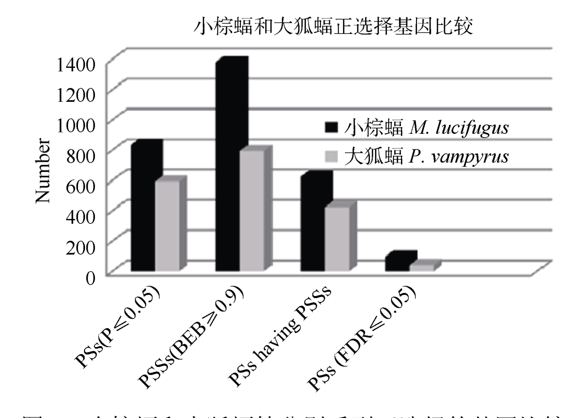


图 2 小棕蝠和大狐蝠枝分别受到正选择的基因比较
Figure 2 Comparison of positively selected genes between *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus*

PSs (*P*≤0.05)：正选择基因；PSSs (BEB≥0.9)：正选择基因内的正选择位点；PSs with PSSs: 包含正选择位点的正选择基因；PSs (FDR≤0.05): 多重校正后的正选择基因。

PSs (*P*≤0.05): Positively selected genes; PSSs: Positively selected sites within PSs. PSs (FDR≤0.05):Positively selected genes after multiple correction.

2.2 小棕蝠和大狐蝠独立受到正选择的基因富集分析

富集分析结果显示，小棕蝠中独立受到正选择的基因富集于以下 Go-terms: GO:0006954 (炎症反应 inflammatory response：*P=2.58E-04*)、GO:0045087 (天生免疫应答 innate immune response：*P=0.03*)、GO:0003774 (运动活性 motor activity：*P*=0.01)、GO:0044456 (突触 synapse part：*P=0.057*)、GO:0021680 (小脑蒲氏细胞层发育 cerebellar Purkinje cell layer development：*P=0.06*)、GO:0031594 (神经肌肉接头 neuromuscular junction：*P*=0.06)、GO:0060537 (肌肉组织发育 muscle tissue development: *P=0.08*)、GO:0048840 (耳石发育 otolith development：*P=0.08*)、GO:0048806 (生殖器发育 genitalia development：*P=0.07*)和 GO:0060541 (呼吸系统发育 respiratory system development：*P=0.08*)等，以及 KEGG 通路：hsa04020 (钙离子 calcium signaling pathway：*P=0.008*)、hsa04670 (白血球穿内皮层迁移 leukocyte transendothelial migration：*P=0.01*)和 hsa05416 (病毒性心肌炎 viral myocarditis：*P=0.03*, hsa04360 (轴突导向 axon guidance：*P=0.05*)等。其他富集显著的类别见图 3a，附表 3（本刊网站 Supporting info）。

大狐蝠中独立受到正选择的基因富集于以下 Go-terms: GO:0016042 (脂代谢 lipid catabolic process: *P=3.48E-04*)、GO:0030182 (neuron differentiation: *P=5.71E-04*)、GO:0048666 (neuron development：*P=0.001*)、GO:0007584 (response to nutrient：*P=0.006*)、GO:0032934 (sterol binding：*P=0.016*)、GO:0009062 (脂肪酸代谢 fatty acid catabolic process: *P=0.017*)、 GO:0015918 (固醇运输 sterol transport：*P=0.019*)、GO:0030301 (胆固醇运输 cholesterol transport: *P=0.019*)、 GO:0048593 (眼部形态发生 camera-type eye morphogenesis：*P=0.03*)、GO:0016358 (树突发育 dendrite development：*P=0.07*)和 GO:0043408 (MAPKKK 级

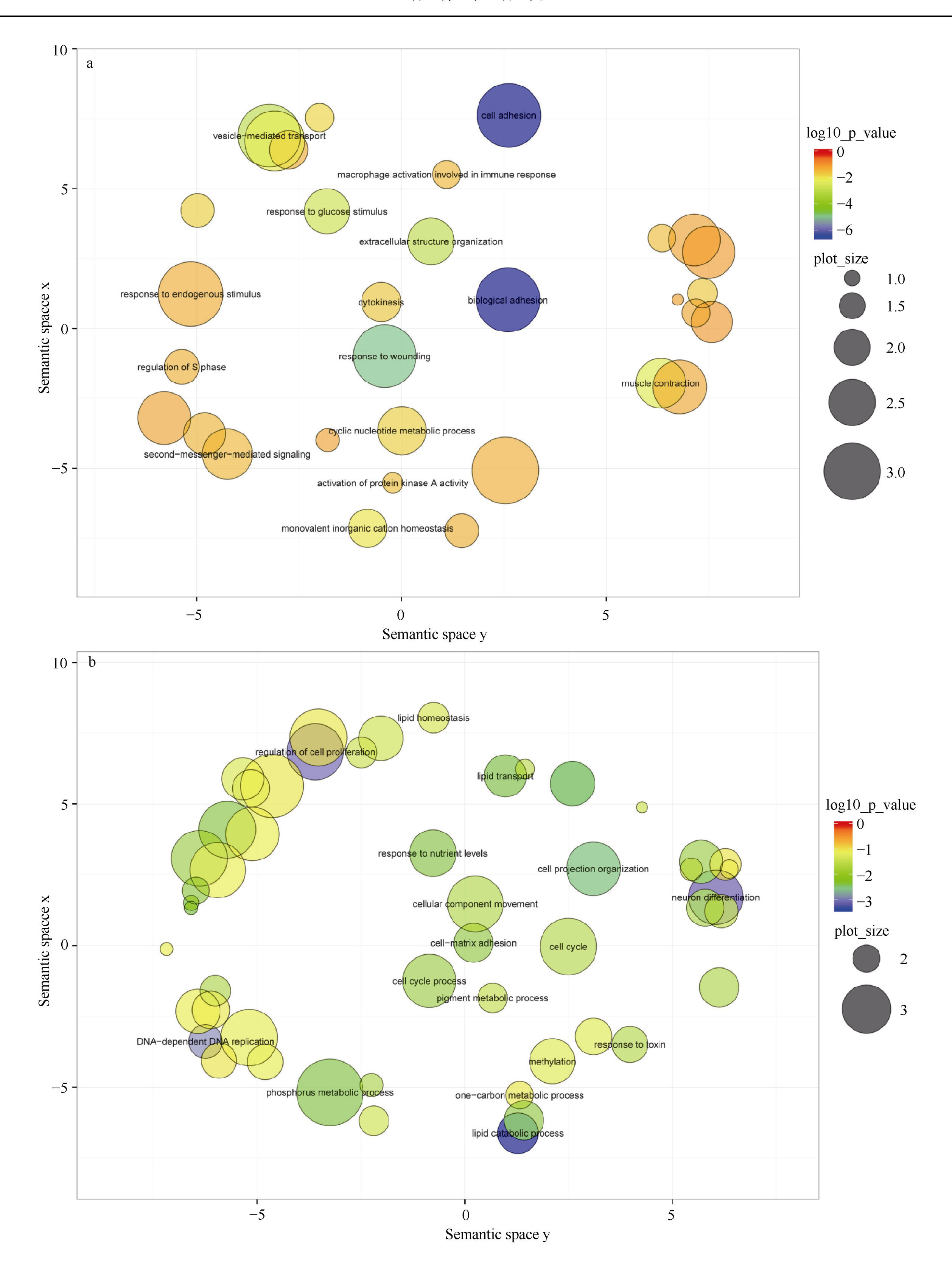


图 3 正选择基因 Go terms 聚类散点图

Figure 3 Scatterplots for enrichment and clustering analysis

语义越相近的 Go-term 在图中距离越近；颜色和点的大小依 $\log_{10}$P 值的变化而变化；a:小棕蝠；b:大狐蝠。

More semantically similar GO terms were also closer in the plot; the color and size of the plot was dependent on the $\log_{10}$P value; a: *Myotis lucifugus*; b: *Pteropus vampyrus*.

联反应调节：regulation of MAPKKK cascade：*P=0.08*)等, 以及 KEGG 信号通路 hsa04666 (Fc gamma R 介导的细胞吞噬作用 Fc gamma R-mediated phagocytosis：*P=0.08*)等。其他富集显著的类别见图 3b，附表 3（本刊网站 Supporting info）。两种蝙蝠不同富集类别的比较见图 4。

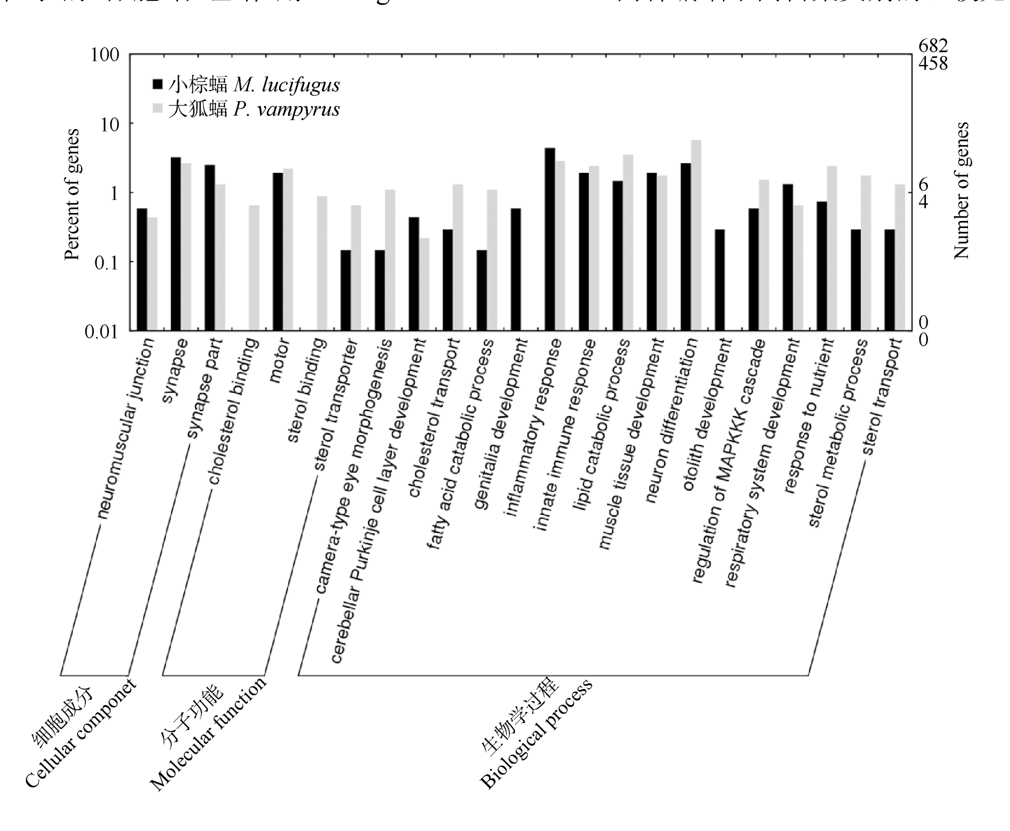


图 4 小棕蝠或大狐蝠正选择基因显著富集的部分 Go-terms

Figure 4 Significantly enriched Go-terms in *Myotis lucifugus* and *Pteropus vampyrus*

3 讨 论

自然选择在宏观水平对动物施加影响，选择压力分析是研究动物适应性进化的有力手段。动物是否能够进化出新的功能或性状来适应环境压力，则取决于分子水平突变的产生和固定。在产生新功能的过程中，一些能够提高动物在某种特定环境相对适应系数的非同义替换突变被固定下来。带有这些有利突变的基因型要么获得了更高的作用活性，要么获得了新功能，以适应更加复杂的生物功能。由于选择压力分析计算非同义突变和同义突变率的比值，因此，非常适用于追踪物种间功能分化过程中留下的痕迹。我们使用分枝−位点模型，正是基于其所探测到的正选择信号在适应性进化中可能发挥的重要作用。本研究以小棕蝠为前景枝探测到的正选择基因数高于以大狐蝠为前景枝探测到的正选择基因数 (835：592，$P \leqslant 0.001$,卡方检验)。在两个蝙蝠物种受到正选择基因里，仅 62 个基因在两个物种中都受到正选择，而绝大部分正选择基因仅在一个物种中出现。功能聚类结果也表明，这些独立出现的正选择基因，在两个物种中绝大部分分布于不同的功能类别，因此，对小棕蝠和大狐蝠全基因组选择压力的分析表明两种蝙蝠在适应性进化方向上发生了较大分化。

小棕蝠中，独立受到正选择的基因主要富集在与免疫功能和神经介导的运动相关的功能中。富集的免疫相关生物学过程包括炎症反应(GO:0006954)和天然免疫应答(GO:0045087), 富集的免疫相关通路包括白血球穿内皮细胞层(hsa04670)。以往的选择压力分析表明，免疫和生殖相关基因往往容易受到正选择，我们的分析也验证了这一点。蝙蝠的免疫功能特殊，它们是多达 80 种病毒的宿主，还有新的病毒在其体内被不断发现(Calisher et al, 2006; Wong et al, 2007)，其中包括埃博拉病毒 (Ebola)、亨德拉病毒 (Hendra)、尼帕病毒 (Nipah) 和轮状病毒 (SARS-like coronaviruses)

等会对人类致死或造成严重损害，而却对蝙蝠无害 (Calisher et al, 2006)。因此，蝙蝠和病毒长期的共同进化，可能使得蝙蝠的免疫系统发生了适应性进化，以面对不同病毒的侵袭。其相关机制，有一种假说认为蝙蝠的天然免疫系统可以在病毒复制初期抑制复制。在小棕蝠正选择基因中富集于天然免疫系统和相关功能的基因，可能与这些免疫机制有关。此外，有研究表明蝙蝠的不同食性和筑巢行为对免疫功能有较大影响 (Allen et al, 2008)，且在一些与免疫有关的基因重复事件和病毒元件插入事件中，食果蝠和食虫蝠基因组差异显著 (Zhang et al, 2012)。本研究中小棕蝠的正选择基因在免疫功能方面的显著富集 (而大狐蝠正选择基因在此功能富集不显著)可能反映了两种蝙蝠免疫功能的差异。正选择基因所富集的神经介导运动功能的生物学过程包括：肌肉组织发育(GO:0060537)、运动活性 (GO:0003774)、突触 (GO:0044456)、神经肌肉接头 (GO:0031594)、小脑蒲式细胞层 (GO:0021680) 和耳石发育 (GO:0048840)等。其中，神经肌肉接头与肌肉接受神经冲动信号与发出动作有关，小脑蒲式细胞层和耳石都与动物运动平衡有关 (Fries et al, 1993; Schiffmann et al, 1999)。回声定位的小棕蝠对神经−运动反馈效率和精度有较高要求。回声定位过程中，蝙蝠要不断收集和分析回声信号，运动系统则要随时根据分析结果作出实时快速反应。正选择基因的富集情况提示这些基因在该功能中可能起到的作用。

在大狐蝠中独立受到正选择的基因主要富集在营养物质代谢 (主要是脂类代谢，固醇代谢)、神经元和眼部形态发育功能中。富集的涉及营养代谢的生物学过程包括：营养反应 (GO:0007584)、脂质代谢 (GO:0016042)、脂肪酸代谢 (GO:0009062)、固醇运输 (GO:0015918)、固醇平衡 (GO:0055092)、胆固醇平衡 (GO:0042632) 和脂肪酸氧化 (GO:0019395)等。大狐蝠的主要食物是果实，脂类含量极低。正选择基因在脂质代谢相关基因中的富集可能提示了狐蝠由于食物的原因对脂类代谢和合成有更高的选择压力。而正选择在眼部形态发育功能 (GO:0048593)的富集，则可能与大狐蝠的大眼睛和发达的暗视觉功能有关。

在一些功能中，小棕蝠和大狐蝠的正选择功能富集情况有很大差异 (图 4)。例如和固醇代谢的许多基因集中，大狐蝠中受到正选择的基因都高于小棕蝠，特别是 sterol binding (包括 cholesterol binding) 这个功能中，大狐蝠的正选择基因是 4 个，而小棕蝠的正选择基因数为 0。而在耳石发育 (otolith development)和生殖器发育 (genitalia development) 功能中，小棕蝠的正选择基因数远高于大狐蝠 (分别为 4:0 及 2:0)。这些现象均表明，小棕蝠和大狐蝠的食性、感觉系统以及其他行为学和生理学差异导致了其适应性进化方向发生分化。后续研究，包括结合转录组和蛋白组数据来分析正选择基因在不同物种中的基因表达情况，可以为这些预测提供更好的功能支持。

致谢：感谢云南大学研究生陈星对论文撰写方面的帮助。

参考文献：

Acharya KK, Roy A, Krishna A. 1998. Relative role of olfactory cues and certain non-olfactory factors in foraging of fruit-eating bats. *Behavioural Processes,* **44**(1): 59-64.

Allen LC, Turmelle AS, Mendonça MT, Navara KJ, Kunz TH, McCracken GF. 2008. Roosting ecology and variation in adaptive and innate immune system function in the Brazilian free-tailed bat (Tadarida brasiliensis). *Journal of Comparative Physiology B,* **179**(3): 315-323.

Belwood JJ, Fenton MB. 1976. Variation in the diet of Myotis lucifugus (Chiroptera: Vespertilionidae). *Canadian Journal of Zoology,* **54**(10): 1674-1678.

Benjamini Y, Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological),* **57**(1): 289-300.

Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmesand KV, Schountz T. 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews,* **19**(3): 531-545.

Fenton MB, Bell GP. 1979. Echolocation and feeding behaviour in four species of Myotis (Chiroptera). *Canadian Journal of Zoology,* **57**(6): 1271-1277.

Fenton MB, Barclay RM. 1980. *Myotis lucifugus*. American Society of Mammalogists, Mammalian Species，(1980): 1-8.

Fries W, Dieterich M, Brandt T. 1993. Otolith contributions to postural control in man: Short latency motor responses following sound stimulation in a case of otolithic Tullio phenomenon. *Gait & Posture,* **1**(3): 145-153.

Kunz TH, Jones DP. 2000. Pteropus Vampyrus. Mammalian Species: 1-6.

Lēkagul B, McNeely JA. 1977. Mammals of Thailand. Bangkok: Association for the Conservation of Wildlife.

Murphy WJ. 2001. Resolution of the early placental mammal radiation using bayesian phylogenetics. *Science,* **294**(5550): 2348-2351.

Payne J, Francisand CM, Phillipps K. 1985. A Field Guide to the Mammals of Borneo. Kota Kinabalu: Sabah Society; Kuala Lumpur: World Wildlife Fund Malaysia.

Phillips CJ. 2000. A theoretical consideration of dental morphology, ontogeny, and evolution in bats. *In*: Adams RA, Pedersen SC. Ontogeny, Functional Ecology, and Evolution of Bats. Cambridge: Cambridge University Press, 247-274.

Sánchez F, Korine C, Steeghs M, Laarhoven LJ, Cristescu SM, Harren FJM, Dudleyand R, Pinshow B. 2006. Ethanol and methanol as possible odor cues for egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Journal of Chemical Ecology,* **32**(6): 1289-1300.

Schiffmann SN, Cheron G, Lohof A, d'Alcantara P, Meyer M, Parmentier M,Schurmans S. 1999. Impaired motor coordination and Purkinje cell excitability in mice lacking calretinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* **96**(9): 5257-5262.

Schnitzler HU, Kalko EK. 1998. How echolocating bats search and find food. *In*: Kunz TH, Racey PA. Bat biology and conservation. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 183-196.

Schnitzler HU, Kalko EK. 2001. Echolocation by insect-eating bats. *Bioscience,* **51**(7): 557-569.

Shen YY, Zhou WP, Zhou TC, Zeng YN, Li GM, Irwinand DM, Zhang YP. 2012. Genome-wide scan for bats and dolphin to detect their genetic basis for New Locomotive styles. *PLoS ONE,* **7**(11): e46455.

Simmons NB, Wilson D, Reeder D. 2005. Order chiroptera. *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference,* **1**: 312-529.

Supek F, Bošnjak M, Škunca N, Šmuc T. 2011. REVIGO summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. *PLoS ONE*, **6**(7): e21800.

Wong S, Lau S, Wooand P, Yuen KY. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Reviews in Medical Virology,* **17**(2): 67-91.

Ye J, Fang L, Zheng H, Zhang Y, Chen J, Zhang Z, Wang J, Li S, Liand R, Bolund L. 2006. WEGO: a web tool for plotting GO annotations. *Nucleic Acids Research,* **34** (suppl 2): W293-W297.

Zhang GJ, Cowled C, Shi ZL, Huang ZY, Bishop-Lilly KA, Fang XD, Wynne JW, Xiong ZQ, Baker ML, Zhao W, Tachedjian M, Zhu YB, Zhou P, Jiang XT, Ng J, Yang L, Wu LJ, Xiao J, Feng Y, Chen YX, Sun XQ, Zhang Y, Marsh GA, Crameri G, Broder CC, Frey KG, Wang LF, Wang J. 2012. Comparative analysis of bat genomes provides insight into the evolution of flight and immunity. *Science,* **339**(6118): 456-460.

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 228−237 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0228

中华攀雀线粒体基因组全序列测定与分析

高瑞瑞[1]，黄 原[1,*]，雷富民[2]

1. 陕西师范大学 生命科学学院，西安 710062;

2. 中国科学院动物研究所 动物系统与进化重点实验室，北京 100101

摘要：该研究使用长 PCR 扩增和引物步移法测定了中华攀雀 (*Remiz consobrinus*) 线粒体基因组全序列，在对序列进行拼接和注释的基础上，分析了其结构、序列组成及蛋白编码基因密码子使用情况等，并对 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA 的二级结构以及控制区结构进行了预测及系统发育分析，为雀形目鸟类的系统发育研究提供了新信息。中华攀雀线粒体基因组全长 16 737 bp，GenBank 登录号 KC463856，碱基 A、T、C、G 的含量分别为 27.8%、21.5%、35.4%及 15.3%， 37 个基因排列顺序与已报道的其他鸟类基本一致，包含 13 个蛋白编码基因、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因及 1 个非编码的控制区 (D-loop)，有 18 对基因间共存在 77 bp 的间隔，7 对基因间共存在 30 bp 的重叠。除 *ND3* 基因的起始密码子为 ATT 外，其余均为标准的 ATG，11 个蛋白编码基因的终止密码子为 TAA、TAG、AGA 或 AGG，2 个为不完全终止密码子 T (*COIII*、*ND4*)。除 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ DHU 臂缺失外，其余 21 个 tRNA 均可形成典型的三叶草结构，在出现的 27 处碱基错配中有 19 处为常见的 G-U 错配。*SrRNA* 和 *LrRNA* 二级结构分别包含 3 个结构域 47 个茎环结构和 6 个结构域 60 个茎环结构，与所发表的其他鸟类 rRNA 二级结构大体一致。中华攀雀控制区发现了同样存在于其他鸟类控制区的保守框 F-box、D-box、C-box、B-box、Bird similarity-box 和 CSB1-box。该研究支持将攀雀科作为独立的科，同时，支持莺总科与攀雀科的单系性。

关键词：中华攀雀；线粒体全基因组；蛋白编码基因；tRNA 二级结构；rRNA 二级结构；控制区
中图分类号：Q959.7⁺39; Q52 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0228-10

Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Remiz consobrinus*

Rui-Rui GAO [1], Yuan HUANG [1,*], Fu-Min LEI [2]

1. *School of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an* 710062, *China;*

2. *Key Laboratory of the Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100101, *China*

Abstract: The complete mitochondrial genome sequence of *Remiz consobrinus* was determined using long PCR and conserved primers walking approaches. Based on the results of assembling and annotation, the structure, sequence composition and codon usage of the genome protein-coding genes were analyzed, and the prediction of the secondary structure of 22 tRNA and 2 rRNA, the control region structure, and the phylogeny were also conducted, which provided new information for phylogenetic studies of passerine birds. The entire mitochondrial genome of *Remiz consobrinus* was 16 737 bp in length, the accession number was KC463856 and the content of A, T, C, and G were 27.8%, 21.5%, 35.4%, and 15.3%, respectively. The genome harbored the same gene order with that of other birds, and contained 13 protein coding genes (PCGs), 22 tRNA, 2 rRNA, and a non-coding control region. There were 77 bp intergenic intervals between 18 pair genes and 30 bp overlaps between 7 pair genes. Except for *ND3* gene, which used ATT as the initiation codon, all other PCGs started with the typical ATG codon. Except for *COIII* and *ND4*, which used incomplete termination codon T, the other 11 PCGs used standard TAA, TAG, AGA or AGG as termination codons. The tRNAs all formed typical cloverleaf secondary structure, except for tRNA*Ser-AGN*, which lost the DHU arm in its structure. A total of 27 base mismatches appeared, with 19 common G-U mismatches. The predicted secondary structure of *SrRNA* and *LrRNA* contained 3 domains with 47 helices and 6 domains with 60 helices, respectively. Besides F-box, D-box, C-box, and B-box, Bird similarity-box and CSB1-box were also found in the control region of *Remiz consobrinus*, as found in other bird species. Our results suggest Remizidae as a separate family. The monophyly of Sylviidae and Remizidae was supported.

Keywords: *Remiz consobrinus*; Complete mitochondrial genome; Protein-coding genes; tRNA secondary structure; rRNA secondary structure; Control region

收稿日期：2012-12-23；接受日期：2013-01-13

基金项目：国家杰出青年科学基金 (30925008)；中国科学院动物进化与系统学重点实验室开放课题 (O529YX5105)

[*]通信作者 (Corresponding author)，E-mail: yuanh@snnu.cn

鸟类的线粒体基因组 (mitochondrial genome, mtDNA) 为闭合环状分子，包括 13 个蛋白编码基因、2 个 rRNA 基因、22 个 tRNA 基因及一或二个非编码区，即 D-loop 区 (Boore, 1999)。基因排列较为紧密，无内含子，除起调控作用的非编码区外，整个基因组均具编码功能 (Quinn, 1997)。由于具有分子结构简单、母系遗传严格、碱基突变率高及进化速度快等特点，线粒体基因组已成为从分子水平研究鸟类起源、进化及系统发育等的理想材料，并取得了许多有意义的结果 (Avise et al, 1990; Ramirez et al, 1993; Stoneking & Soodyall, 1996)。根据 NCBI 线粒体基因组数据统计，截至 2012 年 3 月底，已测出的鸟类全线粒体基因组序列～250 条，其中雀形目鸟类为 39 个物种共 43 条。

雀形目鸟类是鸟纲中最大的一个类群 (Zheng, 2002)，有关该类群的起源及演化关系，一直是鸟类学界关注的焦点。分子系统学在解决各种生物类群起源和演化方面极具优势，许多有争议的问题均可通过分子手段加以解决。然而，与雀形目鸟类相关的分子生物学研究还很薄弱，相应的分子系统工作开展较少，影响了该类群系统学问题的解决。因此，补充该类群线粒体全序列有利于解决其现存的系统发育问题。

分布于我国东北部的中华攀雀(*Remiz consobrinus*)隶属于雀形目 (Passeriformes)攀雀科 (Remizidae)攀雀属 (*Remiz*)。关于其分类地位仍存在争议，在 Sibley & Ahlquist (1990)的分类系统中，攀雀隶属于山雀科的亚科，并隶属于莺总科，而后来的系统发育研究　倾向于将攀雀作为独立的科(Sheldon & Gill, 1996; Dai et al, 2010; Pakert et al, 2010),并与山雀科一起从莺总科中分离 (Alström et al, 2006)。

目前尚无攀雀科全线粒体基因组的研究报道。本文首次测定了中华攀雀线粒体基因组全序列，在对序列进行拼接、注释的基础上，对其结构、序列组成及蛋白编码基因密码子使用情况等进行了分析，对 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA 的二级结构以及控制区结构进行了预测和分析，以期为雀形目鸟类的系统发育研究提供新的基因组学信息。

1　材料与方法

1.1　研究对象

中华攀雀标本于 2009 年 5 月 13 日采集于辽宁省盘锦市新兴镇躺岗子村，标本浸泡于无水乙醇并保存于−20 ℃冰箱，期间更换酒精数次。其相关凭证标本 (IOZ10652)现保存于中国科学院动物研究所动物系统与进化重点实验室鸟类标本馆。

1.2　实验方法

1.2.1　总 DNA 提取

本研究以中华攀雀为实验材料，采用传统的酚−氯仿−异戊醇法 (Dang et al, 2008) 提取和纯化总 DNA，于−20 ℃冰箱保存备用。

1.2.2　引物设计和 PCR 扩增

以红原鸡(*Gallus gallus*, NC_002069)线粒体基因组全序列为模板，结合从 GenBank 数据库中下载的 40 种雀形目鸟类线粒体基因组全序列，利用 Clustal X 软件比对寻找保守性较高的序列，利用 Primer Premier 5.0 软件，依据引物设计原则，参考 Sorenson et al (1999，2003) 发表文献中提供的引物位置综合设计了 29 对 PCR 扩增引物，并且使用 Oligo 软件对每条引物进行评价和修改。从中选取 5 对作为 L-PCR 引物，其余作为 Sub-PCR 引物。所有引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成，它们在整个基因组中的大致位置和扩增片段的大约长度等详见附录 1（本刊网站 Supporting info）。

使用 5 对 L-PCR 扩增引物将中华攀雀全线粒体基因组扩增为相互重叠的 5 个大片段 L1～L5，0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测所有 PCR 产物，切胶检测结果好的条带并利用 DNA 纯化试剂盒进行纯化回收，最后将回收的目的片段测序。对于大片段要保存部分样品，以备 Sub-PCR 之需。对于 L-PCR 扩增效果不好、测序不通及 L-PCR 没有连接上的部分进行 Sub-PCR，检测、回收及测序方法相同。PCR 扩增反应体系见附录 1（本刊网站 Supporting info）。

L-PCR 反应程序为：93 ℃预变性 2 min；(92 ℃ 10 s，58～53 ℃ 30 s，68 ℃ 10 min)×20；(92 ℃ 10 s，53 ℃ 30 s，68 ℃ 10 min，且每一循环增加 20 s)×20；68 ℃ 7 min；4 ℃保温。

Sub-PCR 反应程序为：95 ℃预变性，4 min；(95 ℃ 45 s，53～58 ℃ 60 s，72 ℃ 60 s)×30/35；72 ℃ 7/4 min，4 ℃保温。

1.2.3　测序

L-PCR 得到的回收产物由公司采用引物步移法进行测序，步移测序效果不好或没有连接上的部

分采用 Sub-PCR 扩增并测序，测序工作均由上海生工生物工程技术有限公司完成。

1.2.4 序列拼接、注释及分析

使用 StadenPackage1.7 (Bonfield et al, 1995)中的 Pregap4 子程序对中华攀雀序列进行拼接。使用 tRNAScan-SE1.21 (Desjardins & Morais, 1990) 在线预测并辅助人工校正，得到了除 $tRNA^{Cys}$ 和 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ 基因以外的其余 20 个 tRNA 基因的二级结构。而对于 $tRNA^{Cys}$ 和 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ 基因、蛋白编码基因及 rRNA 基因和控制区，则通过与已知斑胸草雀 (*Taeniopygia guttata*, NC_007897)全线粒体基因组序列进行比对，并使用 StadenPackage1.7 中的子程序 Spin 分析来确定其相应位置。使用 MEGA5.0 分析得到中华攀雀序列碱基组成及蛋白编码基因密码子使用情况等信息。以红原鸡 *SrRNA* 基因二级结构为模板，并参考五彩绿咬鹃 (*Pharomachrus pavoninus)* (de los Monteros，2003) 及黑尾地鸦 (*Podoces hendersoni*) (Ke et al, 2010) 等鸟类的 *SrRNA* 基因二级结构，对中华攀雀 *SrRNA* 基因二级结构进行了预测。以黑尾地鸦 (*Podoces hendersoni*) 的 *LrRNA* 基因二级结构为模板，并参考黄牛 (*Bos taurus*) (Burk et al, 2002) 和非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) (http://www.rna.ccbb.utexas.edu/) 的 *LrRNA* 基因二级结构，对中华攀雀 *LrRNA* 基因二级结构进行了预测。以红原鸡 (*Gallus gallus)* (Eberhard et al, 2001) 和蓝灰蚋鹟 (*Polioptila caerulea)* (Ruokonen & Kvist, 2002) 控制区序列为基准，参考先前报道的雪雁 (*Anser caerulescens)* (Quinn & Wilson, 1993)、亚马逊鹦鹉 (*Amazona)* (Eberhard et al, 2001) 及黑尾地鸦 (*Podoces hendersoni)* 等部分鸟类的控制区结构域，将红原鸡及包括中华攀雀和蓝灰蚋鹟在内的 17 种雀形目鸟类控制区序列进行比对预测了中华攀雀线粒体控制区结构。

1.2.5 系统发育分析

从 GenBank 数据库中下载 38 个雀形目鸟类以及 2 个雁形目鸟类的全线粒体基因组序列（附录 2，见本刊网站 Supporting info）。将下载的40个物种及本文测定的中华攀雀的全线粒体基因组序列及其中的蛋白编码基因组成两个数据集：ALL 与 PCG。以雁形目鸟类鹊雁 (*Anseranas semipalmata*) 和白额雁 (*Anser albifrons*) 作为外群。利用软件 PAUP 4 beta、Modeltestv3.7、MrModelTest22 及 MrMtgui，估算出两个数据集的最佳模型均为 GTR+I+G (−ln *L*=161417.2812，*K*=10)。利用软件 mrbayes-3.1.2，以估算出的最优模型 GTR+I+G，采用马尔柯夫蒙特卡罗方法 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC)，分别构建两个数据集的贝叶斯树。利用软件 RAxML 和 PAUP 4 beta，同样以估算出的最优模型，分别采用最大似然法和启发式搜索，构建两个数据集的最大似然 (maximum likelihood, ML) 树和最大简约 (maximum parsimony, MP) 树。

2 结 果

2.1 线粒体基因组结构

中华攀雀线粒体基因组全长 16737 bp，包含 13 个蛋白编码基因(PCGs)、22 个转运 RNA 基因 (tRNAs)和 2 个核糖体 RNA 基因 (*SrRNA* 和 *LrRNA*)等在内的共 37 个基因。此外，在 $tRNA^{Phe}$ 和 $tRNA^{Glu}$ 之间有一个长度为 1169 bp 的非编码的控制区 (D-Loop 区)。37 个基因的排列顺序与注释与斑胸草雀一致，*ND5* 到 *SrRNA* 之间的基因排列顺序为：*Cytb*/ $tRNA^{Thr}$/$tRNA^{Pro}$/*ND6*/$tRNA^{Glu}$/D-loop/$tRNA^{phe}$。中华攀雀线粒体全基因组结构较为紧密，有 18 对基因间共存在 77 bp 的间隔，除位于 $tRNA^{Ala}$ 和 $tRNA^{Asn}$ 基因间的间隔为 13 bp 外，其余基因间的间隔长度均在 1~10 bp；有 7 对基因间共存在 30 bp 的重叠，除位于 *ND4L* 和 *ND4*、*ATP8* 和 *ATP6* 以及 *COI* 和 $tRNA^{Ser\text{-}UCN}$ 基因间的重叠长度分别为 7、10 及 9 bp 外，其余 4 处基因间的重叠长度均为 1 bp；既没有重叠也没有间隔的紧密排列基因共 12 对(见附录 3 图 1 和表 5，本刊网站 Supporting info)。

2.2 核苷酸组成

基因组全序列的碱基百分含量为 C(35.4%)>A(27.8%)>T(21.5%)>G(15.3%)，不存在碱基偏向性，该现象在鸟类中很普遍。蛋白编码基因 4 种碱基的百分含量与整个线粒体基因组最接近。密码子第一位点的 4 种碱基含量较为接近，与 Amaiz et al (2001)提出的密码子第一位点碱基出现的频率相似的结论一致；第二位点 T 的含量为 40.0%，其余 3 种碱基的含量均有所减少；第三位点 C 的含量达到了 53.6%，G 的含量则只有 7.6%。可见，密码子第三位点存在明显的碱基偏向性，而第一位点的偏倚度最小。类似的碱基偏倚现象也见于其他鸟类

(Amaiz et al, 2001; Webb & Moore, 2005; Kornegay et al, 1993; Lovette & Bermingham, 1999)。

2.3 蛋白编码基因密码子使用及氨基酸组成

13 个蛋白编码基因全长 11 396 bp，共有 3 787 个密码子(不包含终止密码子)，除 *ND6* 基因定位在轻链上外，其余均定位在重链上。这些蛋白编码基因没有内含子，某些相邻基因之间存在间隔和重叠现象。另外，中华攀雀 *ND3* 基因第 174 位没有发现存在于某些鸟类中的额外胞嘧啶(C)插入现象。起始密码子除 *ND3* 基因为 ATT 外，其余均为标准的 ATG；有 2 个基因的终止密码子为 AGA(*ND1*、*ND5*)，1 个为 AGG(*COⅠ*)，2 个为不完全终止密码子 T (*COⅢ*、*ND4*) ，其余为标准的 TAA (*ND2*、*COⅡ*、*ATP8*、*ATP6*、*ND3*、*ND4L*、*CytB*) 和 TAG (*ND6*) 。使用最频繁的密码子为 CTC、CTA、ATC、GCC 和 TTC，且并不总是与 tRNA 的反密码子完全对应。在所编码的 3 787 个氨基酸中，使用最频繁的氨基酸为 Ala、Ile、Leu、Ser 和 Thr，占所有氨基酸的 49.88%。

2.4 tRNA 二级结构

22 个 tRNA 基因的长度在 66~78 bp，其中 14 个由重链编码，8 个由轻链编码，它们绝大多数都位于蛋白编码基因之间。除 $tRNA^{His}$ 和 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ 之间外，相邻 tRNA 之间均存在重叠和间隔现象。除 tRNA^{Leu} 和 tRNA^{Ser} 对应 2 个 tRNA 外，其余氨基酸均只有对应 1 个 tRNA。除 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ 缺失 DHU 臂外，其余 21 个 tRNA 均可形成典型的三叶草结构。所有 tRNA 基因的二级结构中共出现 27 处碱基错配现象，其中 19 对常见的 G-U 错配及 3 对 A-C 错配，分别发生在 $tRNA^{Arg}$ 和 $tRNA^{Ser\text{-}AGN}$ 的氨基酸接受臂及 $tRNA^{Met}$ 的 TψC 臂；两对 C-C 错配，发生在 $tRNA^{Gly}$ 的反密码子臂和 $tRNA^{Leu\text{-}UUR}$ 的氨基酸臂；U-U 错配、U-C 错配及 A-A 错配各一对，分别发生在 $tRNA^{Gly}$ 的反密码子臂、$tRNA^{Glu}$ 的氨基酸接受臂和 $tRNA^{Asp}$ 的 TψC 臂。

2.5 rRNA 二级结构

SrRNA 和 *LrRNA* 基因分别位于 $tRNA^{Val}$ 和 $tRNA^{Phe}$ 以及 $tRNA^{Leu\text{-}UUR}$ 和 $tRNA^{Val}$ 之间，基因长度分别为 980 bp 和 1596 bp。预测的 *SrRNA* 基因二级结构包含三个结构域，47 个茎环结构，*LrRNA* 基因二级结构包含 6 个结构域，60 个茎环结构。该结果与所发表的其它鸟类 rRNA 二级结构大体一致。

2.6 控制区

基因组具有一个控制区，位于 $tRNA^{Phe}$ 和 $tRNA^{Glu}$ 基因之间，序列长度为 1 169 bp，A+T 含量 54.9%，高于整个基因组的平均水平。控制区结构分析显示：中华攀雀具有保守框 F-box、D-box、B-box、C-box、Bird similarity -box 及 CSB1-box。其中，CSB1 区 5'端存在 20 bp 的核苷酸插入现象。另外，未发现对线粒体基因组复制和双链转录起始起重要作用的 O_H、LSP 和 HSP(见附录 3 图 3，本刊网站 Supporting info)。

2.7 系统发育分析

41 条全线粒体基因组序列所构建的不同系统发育树如图 1 所示，其中的蛋白编码基因序列所构建的不同系统发育树见附录 3 图 2（本刊网站 Supporting info）。因为不同数据集构建的 ML 树和贝叶斯树涉及中华攀雀的分支拓扑结构完全一致，分支支持度均很高，所以，图中只给出贝叶斯树和 MP 树。两个数据集的 ML 树和贝叶斯树及 ALL 数据集的 MP 树显示莺总科的所有科聚为一支，与中华攀雀互为姐妹群，且这两支与雀总科与鹟总科汇聚的分支组成姐妹群。PCG 数据集的 MP 树与其余树涉及中华攀雀的分支拓扑结构有所不同，中华攀雀与鹟总科互为姐妹群，且二者汇成的分支与莺总科互为姐妹群。所有系统发育树均支持将攀雀科作为独立的科，该结果与前人研究结论一致 (Sheldon & Gill, 1996; Dai et al, 2010; Pakert et al, 2010)。但有关中华攀雀的具体位置及是否应该将其从莺总科中分离出来，本文并未确定，还需进一步研究。同时，本研究支持莺总科和攀雀科的单系性。

3 讨　论

3.1 鸟类基因组排列顺序

与脊椎动物 mtDNA 的一般排序 (Desjardins & Morais, 1991) 相比，鸟类 mtDNA 中的 *ND6* 和 $tRNA^{Glu}$ 基因转移到了 $tRNA^{Pro}$ 与控制区之间，*ND5* 到 *SrRNA* 之间的基因排列顺序为：*ND5*/*Cytb*/$tRNA^{Thr}$/$tRNA^{Pro}$/ *ND6*/$tRNA^{Glu}$/CR/ $tRNA^{phe}$/*SrRNA*。自从 Desjardins & Morais (1990)首次在红原鸡中发现鸟类的这一基因排列顺序，随后在日本鹌鹑 (*Coturnix japonica*) (Desjardins & Morais, 1991)、血雁 (*Anser caerulescens*) (Wenink et al, 1994)、鹬类 (turnstones and dunlins) (Ruokonen & Kvist, 2002)及雀形目其他鸟类 (Marshall & Baker, 1997)中均发现

了这一排列顺序。本文所研究的中华攀雀与鸟类 mtDNA 的这一排列顺序相同，说明了鸟类线粒体基因组进化上相对保守性，也证明这种基因排列顺序在鸟类中可能是一个普遍现象，且这种现象一定发生在鸟类进化的早期 (Li & Ma, 2007)。Marshall et al (1997)认为这种排序可能是由于鸟类 mtDNA 发生了基因转座现象，同时认为这种排序增加了 $tRNA^{Glu}$ 基因序列的分化，他们发现苍头燕雀 (*Fringilla coelebs*) 和欧金翅雀 (*Carduelis chloris*) $tRNA^{Glu}$ 基因序列的差异达 17.6%。Quinn & Wilson (1993) 认为这可能是功能限制性减少的结果，因为 $tRNA^{Glu}$ 基因与任何基因的转录过程均无关。

然而，Mindell et al (1998) 在隼形目 (Falconiformes)、鹃形目 (Cuculiformes)、鴷形目 (Piciformes) 及雀形目的亚鸣禽 (suboscine Passerioformes)，Bensch & Härlid (2000) 在 6 种柳莺属 (*Phylloscopus*)，Eberhard et al (2001)在亚马逊鹦鹉属 (*Amazona*) 等鸟类中发现了另一种基因排列顺序，即控制区转移到了 $tRNA^{Thr}$ 和 $tRNA^{Pro}$ 之间，且在 $tRNA^{Glu}$ 和 $tRNA^{Phe}$ 之间发现了一段类似于控制区的非编码序列 (NC)，即 *Cyt b*/$tRNA^{Thr}$/ D-loop/ $tRNA^{Pro}$/ *ND6* /$tRNA^{Glu}$/NC/ $tRNA^{Phe}$。其中，在灰头阔嘴鸟 (*Smithornis sharpie)* (Mindell et al, 1998)中，D-loop 和 NC 的相似度达 82%，暗示 NC 的出现很可能是由于 D-loop 的重排所致。因此，从脊椎动物线粒体基因组排列顺序到鸟类的第二种排列顺序至少经历了两次进化改变 (*ND6* /$tRNA^{Glu}$ 重排和 D-loop 重排)。Bensch & Härlid (2000) 认为不同鸟类基因组序列的这种重排具有多重起源，因此，鸟类线粒体基因重排在构建系统发育关系方面的价值仍不确定，这与之前 Mindell et al (1998) 所认为的鸟类线粒体基因重排可用来区分雀形目中的鸣禽与亚鸣禽的观点不一致。

Moritz & Brown (1986) 认为鸟类线粒体基因重排是通过基因倍增—删除或倍增—退化而实现的。即倍增后的基因再被随机删除或退化，最终导致新的基因排列顺序。基因倍增可通过基因重组、转座、滑链错配和复制终止出错实现 (Levinson & Gutman, 1987; Stanton et al, 1994)。Bensch & Härlid (2000) 认为鸟类线粒体基因组的这种重排是在 $tRNA^{Pro}$ /*ND6*/$tRNA^{Glu}$/ D-loop 倍增后，紧接着又删除部分 D-loop 外的其中一个拷贝形成的。此外，Haddrath & Baker (2001) 在凤头鴂(*Eudromia formosa*) 中发现了一种新的基因排列顺序 *Cyt b*/$tRNA^{Thr}$/$tRNA^{Pro}$/ D-loop 1/*ND6*/ $tRNA^{Glu}$/ D-loop 2, Abbott et al (2005) 在鹱形目黑眉信天翁 (*Diomedea melanophris*) 中也发现了另一种新的基因排列顺序 *Cytb*/$tRNA^{Thr}$/$tRNA^{Pro}$/*ND6*/$tRNA^{Glu}$/D-loop 1/$tRNA^{Thr2}$/ $tRNA^{Pro2}$/ *ND62*/$tRNA^{Glu2}$/ D-loop 2。Gibb et al (2007) 认为，鸟类 mtDNA 的基因重排首先开始于 $tRNA^{Thr}$/$tRNA^{Pro}$/*ND6*/ $tRNA^{Glu}$/ D-loop 的倍增，在此基础上可以通过删除拷贝的不同区域形成另外的三种重排。同时，他们提出，倍增的基因是不确定的，可以是 $tRNA^{Thr}$ 到 D-loop 的整个片段，也可以是它们之间的某一片段或只有 D-loop 片段，且这些倍增的基因需要重新插入到 $tRNA^{Thr}$ 与 $tRNA^{Pro}$之间，而不是紧跟第一个复制片段。Singh et al (2008) 对莺科 3 种鸟类线粒体基因组的研究中发现，莺科的这种重排可能先经过 D-loop 复制形成 D-loop 2，然后 D-loop 2 在不同物种中积累不同的碱基替换和删除，从而破坏两个拷贝的协同进化，最终使得 D-loop 2 形成一段类似于 D-loop 的非编码序列。

由于没有任何一个复制—删除模型可以解释所有重排现象，Mueller & Boore (2005)认为很可能所有模式对于鸟类 mtDNA 的重排都是可行的。由于复制和删除是随机的，在此模型下鸟类 mtDNA 排列顺序应该有很多种，而目前仅发现了以上几种排列方式。Benseh et al (2000) 认为一种可能的解释是大部分线粒体基因的重排可能是有害的，只有少数的基因组合是可行的，从而达到固定。因而，鸟类中是否存在更多的基因排列模式以及少数部分片段倍增后的 mtDNA 如何最终在群体中达到固定还有待进一步研究。

3.2 蛋白编码基因密码子使用情况

中华攀雀 13 个蛋白编码基因的起始密码子有两种，ATT 和 ATG (*ND3* 为 ATT)，以 ATG 的使用频率最高。其中 *COI* 的起始密码子为 ATG，在已全测序的 39 种雀形目鸟类线粒体基因组中，还有 6 个物种 *COI* 的起始密码子也为 ATG，而非 GTG。这与一些学者认为的鸟类 mtDNA 中，*COI* 基因的起始密码子为 GTG，而非通常的 ATG 的观点不一致。中华攀雀 13 个蛋白编码基因的终止密码子有 5 种，AGA、AGG、TAG、TAA 及 T (*COIII* 和 *ND4*)，以 TAA 的使用频率最高。不完全终止密码子 (T 或 TA) 在脊椎动物中并不罕见 (Cui

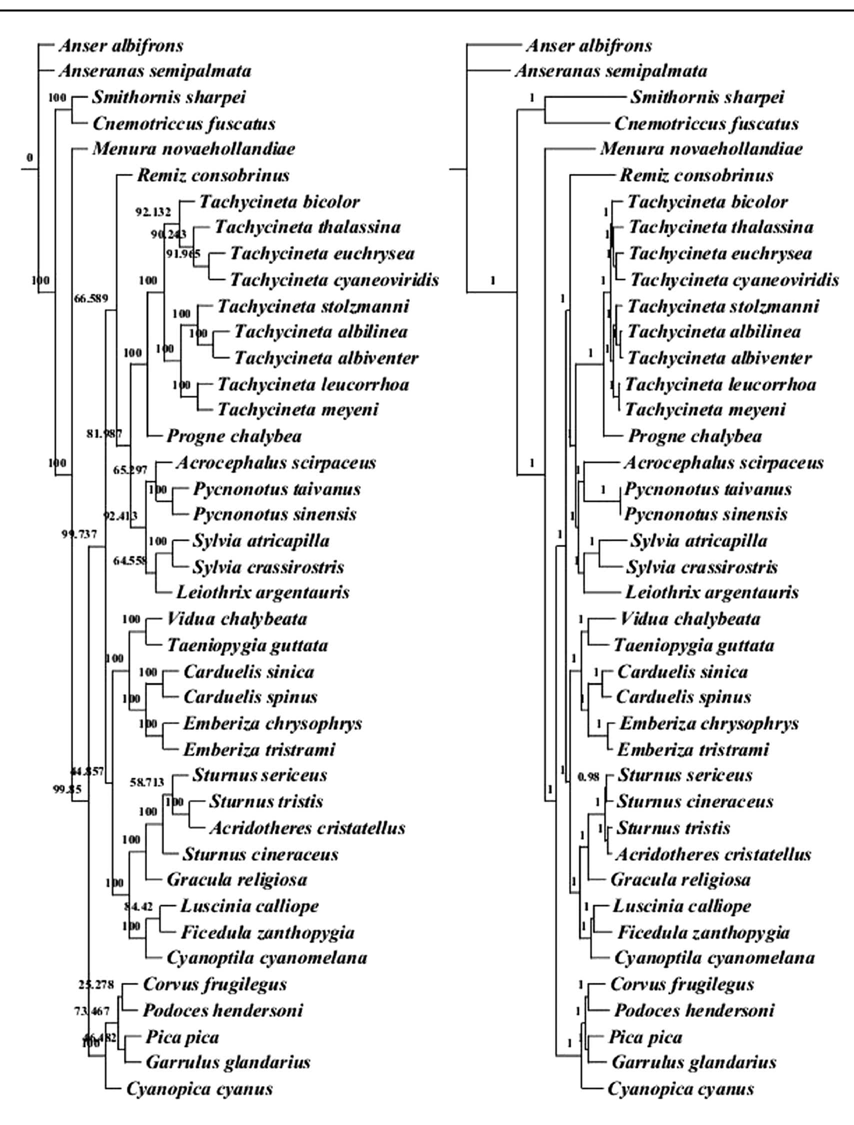


图 1　ALL 数据集的系统树(左为 MP 法，右为贝叶斯法)
Figure 1　Phylogenetic trees based on ALL (left：MP method, right：Bayesian method)

et al, 2009)。通常不完全终止密码子是由于 3′端与 tRNA 紧密相连或重叠所致 (Wolstenholme, 1992b)，这种不完全的终止结构在转录过程将由 mRNA 3′端出现的 Poly(A)补全 (Ojala et al, 1981; Anderson et al, 1981)。

对密码子使用频率的研究表明：密码子以 A 或 C 结尾的频率较高，密码子 CTC、CTA、ATC、GCC 和 TTC 的使用较多，并且这些密码子在其同义密码子中的相对使用频率也较高，表明存在密码子使用偏好性。

3.3　tRNA 二级结构

中华攀雀 22 个 tRNA 基因的排列顺序、长度和二级结构与所报道的其他雀形目鸟类基本一致。除 *tRNA*$^{Ser\text{-}AGN}$ 缺失了 DHU 臂外，其余 21 个 tRNA 均可形成典型的三叶草结构。这种情况在包括鸟类在内的后生动物中比较常见 (Wolstenholme, 1992a)。*tRNA*$^{Ser\text{-}AGN}$ DHU 臂的长度从无脊椎动物到脊椎动物有逐渐变短的趋势，红原鸡 *tRNA*$^{Ser\text{-}AGN}$ 的 DHU 臂只有一对碱基对 (Lowe & Eddy, 1997)。缺失 DHU 臂后的 *tRNA*^{Ser} 仍可形成倒 L 型三级结构来维持 CCA 接受臂与反密码子间的距离 (Hanada et al, 2000)。而 Wolstenholme et al (1994)和 Dirheimer (1995) 认为，tRNA 转运特定氨基酸的功能及其倒 L 形三级结构主要由氨基酸臂和反密码子环决定，而 TΨC 环和 DHU 环及其相应的臂似乎不会抑制 tRNA 的功能。

tRNA 基因碱基间的错配在许多后生动物中都存在，在中华攀雀中也是如此，中华攀雀线粒体基

因组 tRNA 中共出现了 27 处碱基错配现象，其中错配频率最高的为 G-U 错配 (19 对)，符合 G-U 摆动配对原则，对于维系 tRNA 二级结构的稳定性起到了很重要的作用。目前有学者认为线粒体基因组中 tRNA 基因的部分错配可能是由于线粒体 DNA 重组机制缺乏，难以清除这些突变现象，但其可以通过 RNA 自我剪切来恢复基因功能，不会引起氨基酸转运上的障碍 (Yokobori & Pääbo, 1995)。

3.4 rRNA 二级结构

rRNA 基因是线粒体基因组中进化最慢和最为保守的基因 (Neefs et al, 1993)，一般环区的进化较快，物种间差异较大，而茎区则相对保守 (Woese et al, 1980; Noller, 1984)，这可能是由于茎区和环区所受选择压力不同。但一些茎区中的部分位点也具有较高的可变性，而一些环区也会有相对保守的序列 (Vawter & Brown, 1993; Simon et al, 1994)，这些小的分歧是由其严格的结构或功能约束而形成(几乎没有位点可以随意变异)，而不是由低突变率所形成。

中华攀雀 *SrRNA* 基因二级结构整体上与红原鸡及黑尾地鸦很相似。但局部也存在差异，如结构域 I 中的 1 区比红原鸡及黑尾地鸦多出了一个碱基对并且在第三位有一个胞嘧啶插入，类似现象在五彩绿咬鹃中也出现过。中华攀雀在结构域 II 中的 24 区形成了 2 bp 的碱基配对，而红原鸡和黑尾地鸦在此处均没有形成配对的茎，在绿头鸭和扁嘴雁中该处形成了 3 bp 的碱基配对，但在左端茎第一、二个碱基对之间存在一单核苷酸胞嘧啶插入形成的突出，各物种的环区差异也较大，黑尾地鸦的最大，说明了这一区域的可变程度；中华攀雀的 27 区比红原鸡和黑尾地鸦多出了两个碱基对，且对应的环区比两者小了很多。结构域 III 中的 32 区在中华攀雀、红原鸡和黑尾地鸦中均形成了 10 bp 的配对且在上端第二、三个碱基对之间均有一个单核苷酸插入形成的突出，但 3 个物种插入的单核苷酸却不同 (分别为 U、A、C)；茎 35、36 被认为是一个具有多凸出的连续结构，至少存在 8bp 的碱基配对才能满足这种排列所需的最小自由能 (Hickson, 1996)，在红原鸡和黑尾地鸦中也有同样的发现；39 区中，中华攀雀与红原鸡和黑尾地鸦相比，茎区明显增大，环区相对缩小。通过对已发表鸟类的 *SrRNA* 基因二级结构分析发现，多数茎区变异都倾向于碱基补偿性突变，这可以保证二级结构的保守性不受一级序列变化的干扰。

中华攀雀 *LrRNA* 基因二级结构与黑尾地鸦很相似，只在局部存在一些差异，如中华攀雀茎 1 形成了 1 bp 的碱基对，而黑尾地鸦在此处并没有配对的碱基；中华攀雀茎 14 比黑尾地鸦多一个碱基对且在左端第三、四个碱基对间有一个单核苷酸鸟嘌呤插入形成的突出；对于茎 19，中华攀雀形成了一个 15 bp 碱基配对的茎，而在黑尾地鸦、非洲爪蟾和黄牛中此处茎的长度分别为 19、17 和 11 bp，并且只有中华攀雀的茎形成了具有发夹结构的颈环；对于茎 24，中华攀雀形成了 3 bp 碱基的配对，黄牛在此处没有配对的碱基，而黑尾地鸦和非洲爪蟾对应的茎则分别形成了 4 和 6 bp 的配对；茎 32 在不同物种中变异很大，呈现出多种排列形式；此外，45 区域紧挨上端环的部分茎区变异也很大。Larsen (1992)发现了对应于中华攀雀线粒体 *LrRNA* 基因二级结构茎 49 的发夹环与茎 51 的 3′端未配对区域间的三级结构相互作用，本研究进一步对雀形目鸟类中这种三级结构的相互作用提供了支撑。

3.5 控制区

中华攀雀和大多数鸟类一样有一个位于 $tRNA^{Phe}$ 和 $tRNA^{Glu}$ 之间的控制区。控制区是整个线粒体基因组序列变异最大、进化最快的一个区域，对 mtDNA 的复制和转录起调控作用，其序列差异可能是造成鸟类不同物种 mtDNA 序列差异的重要原因 (Xiao et al, 2006)。脊椎动物线粒体基因组控制区分为 domain I、domain II 和 domain III 三个结构域，domain I 和 domain III 有较高数量的碱基替换和长度变异，所以进化较快 (Baker & Marshall, 1997)，而 domain II 是 3 个区域中最为保守的区域。

鸟类控制区 domain I 位于控制区 5′端，包含一段与复制终止相关的序列 TAS (ETAS) (Doda et al, 1981; Sbisa et al, 1997)，ETAS 序列保守性以及到终止位点的距离均是可变的 (Foran et al, 1988)，因此，本研究没能定位 TAS (ETAS)。在 domain I 的 5′端还含有一段延伸的胞嘧啶区域，通常被一个或几个胸腺嘧啶断开，目前尚不清楚这一区域形成的原因。在鸡形目和雁形目，这一区域与它下游的一小段序列可形成发夹结构 (Ruokonen & Kvist, 2002)，而在中华攀雀中没有发现类似现象。

绝大多数鸟类控制区 domain II 均可发现保守框 (conserved sequence blocks，CSB) B、D、F，而

C、E 区只存在于部分鸟类中。中华攀雀中存在 F-box、D-box、B-box 及 C-box，但没有发现 E-box。另外，中华攀雀中发现了一段存在于部分鸟类 B-box 上游的比 B-box 序列更为保守但却不同于其他脊椎动物的鸟类相似框 (bird similarity -box) (Ruokonen & Kvist, 2002)。

鸟类控制区 domian III 位于控制区 3′端，一般包含 3 个保守框 (conserved sequence blocks，CSB) 1、2、3，重链复制起始(origin of H-strand replication，O_H)，L-链启动子 (light strand promoter，LSP)和 H-链启动子 (high strand promoter，HSP)。 CSB1 是最保守的成分，几乎所有脊椎动物中都含有 CSB1，而 CSB2 和 CSB3 只存在于部分鸟类中 (Randi & Lucchini, 1998)。中华攀雀中存在 CSB1，未发现有 CSB2 和 CSB3。18 种鸟类 CSB1 区 3′端序列大体一致，但在 5′端都存在 17~20 bp 不等的核苷酸插入现象，本研究中的中华攀雀存在 20 bp 的核苷酸插入。这在其他雀形目鸟类中也有发现 (Ruokonen & Kvist, 2002)。Ruokonen & Kvist (2002)认为这种现象可能是经过不止一次的独立插入而形成，并推测在 CSB1 区真正受功能约束的碱基只有～20 bp。中华攀雀也未发现对线粒体基因组复制和转录起始起重要作用的 O_H、LSP 和 HSP，这种情况也存在于鸮形目鸟类中 (Xiao et al, 2006)。

参考文献：

Abbott CL, Double MC, Trueman JWH, Robinson A, Cockburn A. 2005. An unusual source of apparent mitochondrial heteroplasmy: Duplicate mitochondrial control regions in *Thalassarche albatrosses*. *Molecular Ecology,* **14**(11): 3605-3613.

Alström, P, EricsonPGP, Olsson U, Sundberg P. 2006. Phylogeny and classification of the avian Superfamily Sylvioidea. *Mol Phylogenet Evol*, 38:381-397.

Amaiz-Villena A, Guillen J, Ruiz-del-Valle V, Lowy E, Zamora J, Varela P, Stefani D, Allende LM. 2001. Phylogeography of crossbills, bullfinches, grosbeaks, and rosefinches. *Cell and Molecular Life Sciences,* **58**(8): 1159-1166.

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJH, Staden R, Young IG. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature,* **290**(5806): 457-465.

Avise JC, Ankney CD, Nelson WS. 1990. Mitochondrial gene trees and the evolutionary relationship of mallard and black ducks. *Evolution,* **44**(4): 1109-1119.

Baker AJ, Marshall HD. 1997. Mitochondrial control region sequences as tools for understanding evolution. *In*: Mindell DP. Avian Molecular Evolution and Systematics. San Diego: Academic Press, 51-82.

Bensch S, Härlid A. 2000. Mitochondrial genomic rearrangements in songbirds. *Molecular Biology and Evolution,* **17**(1): 107-113.

Bonfield JK, Smith KF, Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program. *Nucleic Acids Research,* **23**(24): 4992-4999.

Boore JL. 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research,* **27**(8): 1767-1780.

Burk A, Douzery EJP, Springer MS. 2002. The secondary structure of mammalian mitochondrial 16S rRNA molecules: refinements based on a comparative phylogenetic approach. *Journal of Mammalian Evolution,* **9**(3): 225-252.

Cui ZX, Liu Y, Li CP, You F, Chu KH. 2009. The complete mitochondrial genome of the large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Perciformes, Sciaenidae): unusual features of its control region and the phylogenetic position of the Sciaenidae. *Gene,* **432**(1-2): 33-43.

Dang JP, Liu N, Ye W, Huang Y. 2008. Complete mitochondrial genome sequence of *Gastrimargus marmoratus* (Thunberg) (Orthoptera: Acridoidea). *Acta Entomologica Sinica,* **51**(7): 671-680. [党江鹏, 刘念, 叶伟, 黄原. 2008. 云斑车蝗线粒体基因组全序列测定与分析. 昆虫学报, **51**(7): 671-680.]

Dai CY, Chen K, Zhang RY, Yang XJ, Yin ZH, Tian HJ, Zhang ZM, Hu Y, Lei FM. 2010. Molecular phylogenetic analysis among species of Paridae, Remizidae and *Aegithalos* based on mtDNA sequences of COI and cyt b. *Chinese Birds*, **1**(2): 112-123.

de los Monteros AE. 2003. Models of the primary and secondary structure for the 12S rRNA of birds: A guideline for sequence alignment. *DNA Sequencing,* **14**(4): 241-256.

Desjardins P, Morais R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates. *Journal of Molecular Biology,* **212**(4): 599-634.

Desjardins P, Morais R. 1991. Nucleotide sequence and evolution of coding and noncoding regions of a quail mitochondrial genome. *Molecular Evolution,* **32**(2): 153-161.

Dirheimer G, Keith G, Dumas F, Westhof E. 1995. Primary, secondary and tertiary structures of tRNAs. *In*: Hill WE, Dahlbert A, Garrett RA, Moore PB, Schlessinger D, Warner JR. tRNA: Structure, Biosynthesis and Function. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 93-126.

Doda JN, Wright CT, Clayton DA. 1981. Elongation of displacement-loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **78**(10): 6116-6120.

Eberhard JR, Wright TF, Bermingham E. 2001. Duplication and concerted evolution of the mitochondrial control region in the parrot genus *Amazona*. *Molecular Biology and Evolution,* **18**(7): 1330-1342.

Foran DR, Hixson JE, Brown WM. 1988. Comparison of ape and human sequences that regulate mitochondrial DNA transcription and D-loop DNA synthesis. *Nucleic Acids Research,* **16**(13), 5841-5861.

Gibb GC, Kardailsky O, Kimball RT, Braun EL, Penny D. 2007.

Mitochondrial genomes and avian phylogeny: complex characters and resolvability without explosive radiations. *Molecular Biology and Evolution,* **24**(1): 269-280.

Haddrath O, Baker AJ. 2001. Complete mitochondrial DNA genome sequences of extinct birds: ratite phylogenetics and the vicariance biogeography hypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **268**(1470): 939-945.

Hanada T, Suzuki T, Watanabe K. 2000. Translation activity of mitochondrial tRNA with unusual secondary structure. *Nucleic Acids Symposium Series,* (44): 249-250.

Hickson RE, Simon C, Cooper A, Spicer GS, Sullivan J, Penny D. 1996. Conserved sequence motifs, alignment and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA. *Molecular Biology and Evolution,* 13(1): 150-169.

Ke Y, Huang Y, Lei FM. 2010. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Podoces hendersoni*. *Hereditas,* **32**(9): 951-960. [柯杨, 黄原, 雷富民. 2010. 黑尾地鸦线粒体基因组序列测定与分析. 遗传, **32**(9): 951-960.]

Kornegay JR, Kocher TD, Williams LA, Wilson AC. 1993. Pathways of lysozyme Evolution inferred from the sequences of cytochrome b in birds. *Journal of Molecular Evolution,* **37**(4): 367-379.

Larsen N. 1992. Higher order interactions in 23S rRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **89**(11): 5044-5048.

Levinson G, Gutman GA. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution,* **4**(3): 203-221.

Li QW, Ma F. 2007. Birds Molecular Evolution and Molecular Systematics. Beijing: Science Press. [李庆伟, 马飞. 2007. 鸟类分子进化与分子系统学. 北京: 科学出版社.]

Lovette IJ, Bermingham E. 1999. Explosive speciation in the New World *Dendroica* warblers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* **266**(1429): 1629-1636.

Lowe TM, Eddy SR. 1997. tRNAscan-SE: A program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Research,* **25**(5): 955-964.

Marshall HD, Baker AJ. 1997. Structural variation and conservation in the mitochondrial control region of fringilline finches (*Fringilla* spp.) and the greenfinch (*Carduelis chloris*). *Molecular Biology and Evolution,* **14**(2): 173-184.

Mindell D P, Sorenson M D, Dimcheff D E. 1998. Multiple independent origins of mitochondrial gene order in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **95**(18): 10693-10697.

Moritz C, Brown WM. 1986. Tandem duplication of D-loop and ribosomal RNA sequences in lizard mitochondrial DNA. *Science,* **233**(4771): 1425-1427.

Mueller RL, Boore JL. 2005. Molecular mechanisms of extensive mitochondrial gene rearrangement in plethodontid salamanders. *Molecular Biology and Evolution,* **22**(10): 2104-2122.

Neefs JM, Van de Peer Y, De Rijk P, Goris A, De Wachter R. 1993. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequence. *Nucleic Acids Research,* **18**(S1): 2237-2317.

Noller HF. 1984. Structure of ribosomal RNA. *Annual Review of Biochemistry,* **53**(253): 119-162.

Ojala D, Montoya J, Attardi G. 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature,* **290**(5806): 470-474.

Pakert M, Martens J, Sun YH. 2010. Phylogeny of long-tailed tits and allies inferred from mitochondrial and nuclear markers (Aves: Passeriformes, Aegithalidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **55**(3): 952-967.

Quinn MTW. 1997. Molecular Evolution of the Mitochondrial Genome. *In*: Mindell DP. Avian Molecular Evolution and Systematics. SanDiego: Academic Press, 5: 3-28.

Quinn TW, Wilson AC. 1993. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *Journal of Molecular Evolution,* **39**(4): 417-425.

Ramirez V, Savoiel P, Morais R. 1993. Molecular characterization and evolution of a duck mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution,* **37**(3): 296-310.

Randi E, Lucchini V. 1998. Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *Journal of Molecular Evolution,* **47**(4): 449-462.

Ruokonen M, Kvist L. 2002. Structure and evolution of the avian mitochondrial control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **23**(3): 422-432.

Sbisa E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. 1997. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: Identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene,* **205**(1-2): 125-140.

Sheldon FH, Gill FB. 1996. A reconsideration of songbird Phylogeny, with emphasis on the evolution of titmice their sylvioid relatives. *Systems Biology,* **45**(4): 473-495.

Sibley CG, Ahlquist JA. 1990. The Phylogeny and Classification of Birds: A Study in Molecular Evolution. New Haven: Yale University Press.

Simon C, Frati F, Bekenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a complication of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America,* **87**: 651-701.

Singh TR, Shneor O, Huchon D. 2008. Bird mitochondrial gene order: insight from 3 warbler mitochondrial genomes. *Molecular Biology and Evolution,* **25**(3): 475-477.

Sorenson MD. 2003-02-14 [2010-1-8]. Avian mtDNA primers. Boston: Boston University, http://people.bu.edu/msoren/Bird.mt.Primers.pdf.

Sorenson MD, Ast JC, Dimcheff DE, Yuri T, Mindell DP. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **12**(2): 105-114.

Stanton DJ, Daehler LL, Moritz CC, Brown WM. 1994. Sequences with the potential to form stem-and-loop structures are associated with coding-region duplications in animal mitochondrial DNA. *Genetics,* **137**(1): 233-241.

Stoneking M, Soodyall H. 1996. Human evolution and the mitochondrial genome. *Current Opinion in Genetics & Development,* **6**(6): 731-736.

Vawter L, Brown WM. 1993. Rates and patterns of base change in the small subunit ribosomal RNA gene. *Genetics,* **134**(2): 597-608.

Webb DM, Moore WS. 2005. A Phylogenetic analysis of wood Peckers and their allies using 125, Cytb, and COI nucleotide sequences (class Aves;

order Piciformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **36**(2): 233-248.

Wenink PW, Baker AJ, Tilanus MG. 1994. Mitochondrial control region sequences in two shorebird species: the turnstone and the dunlin, and their utility in population genetic studies. *Molecular Biology and Evolution,* **11**(1): 22-31.

Wolstenholme DR. 1992a. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *International Review of Cytology,* **141**: 173-216.

Wolstenholme DR. 1992b. Genetic novelties in mitochondrial genomes of multicellular animals. *Current Opinion in Genetics & Development,* **2**(6): 918-925.

Wolstenholme DR, Okimoto R, Macfarlane JL. 1994. Nucleotide correlations that suggest tertiary interactions in the TV-replacement loop-containing mitochondrial tRNAs of the nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*. *Nucleic Acids Research,* **22**(20): 4300-4306.

Woese CR, Magrum LJ, Gupta R, Siegel RB, Stahl DA, Kop J, Crawford N, Brosius J, Gutell R, Hogan JJ, Noller HF. 1980. Secondary structure model for bacterial 16S ribosomal RNA phylogenetic, enzymatic and chemical evidence. *Nucleic Acids Research,* **8**(10): 2275-2293.

Xiao B, Ma F, Sun Y, Li QW. 2006. Comparative analysis of complete mitochondrial DNA control region of four species of Strigiformes. *Acta Genetica Sinica,* **33**(11): 965-974.

Yokobori S, Pääbo S. 1995. Transfer RNA editing in land snail mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **92**(22): 10432-10435.

Zheng GM. 2002. The World Birds Classification and Distribution List. Beijing: Science Press, 103-243. [郑光美. 2002. 世界鸟类分类与分布名录. 北京：科学出版社, 103-243.]

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 238−243 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0238

多次小剂量 STZ 诱导的成年鼠糖尿病指标的自发恢复

李如江 [1,*]，邱曙东 [2]，田 宏 [2]，周生伟 [1]

1. 潍坊医学院 山东省重点学科人体解剖与组织胚胎学实验室，山东 潍坊 261053；
2. 西安交通大学医学院 人体解剖与组织胚胎学系 环境与疾病相关基因教育部重点实验室，陕西 西安 710061

摘要：多次小剂量链脲佐菌素 (streptozotocin，STZ)诱导的迟发型 1 型糖尿病成年小鼠 (MLD-STZ 成年鼠)血糖水平可自发恢复正常。该文试图对该现象及发生该现象的 MLD-STZ 成年鼠糖尿病指标进行综合分析。造模后，以放射免疫分析法、免疫荧光和 HE 染色等技术研究 MLD-STZ 鼠糖尿病各指标的变化。结果发现，糖尿病发生后，MLD-STZ 鼠的摄食、饮水、体重、血糖和血清胰岛素水平等均随患病时间延长而逐渐加重，在糖尿病第 20 周时最为严重，此后，上述指标、胰岛 β 细胞量及胰岛炎症等逐渐改善。在糖尿病第 36 周时，尽管血糖水平正常的 MLD-STZ 鼠体重尚不及正常对照，但其摄食、饮水、血糖和血清胰岛素水平等尽皆恢复正常，且其胰岛内未见淋巴细胞浸润。上述结果说明 MLD-STZ 成年鼠糖尿病各指标可自发恢复至正常水平。

关键词：链脲佐菌素；1 型糖尿病；血糖；β 细胞量；小鼠
中图分类号：Q493.4 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2013)03-0238-06

Diabetes induced by multiple low doses of STZ can be spontaneously recovered in adult mice

Ru-Jiang LI [1,*], Shu-Dong QIU [2], Hong TIAN [2], Sheng-Wei ZHOU [1]

1. *Department of Anatomy and Histo-Embryology, Laboratory of Key Discipline of Shandong, Weifang Medical University, Weifang* 261053*, China;*
2. *Department of Anatomy and Histo-Embryology, Key Laboratory of Environment and Genes Related to Disease, Ministry of Education, Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710061*, China*

Abstract: In a previous study, we observed that multiple low doses of streptozotocin (STZ) can induce spontaneous restoration of normoglycemia in adult mouse diabetes models. In the present study, we sought to identify when spontaneous recovery from diabetes occurs and to disclose the changes in the diabetic data of diabetic mice induced by multiple low doses of streptozotocin (MLD-STZ mice). After inducing type 1 diabetes mellitus, radioimmunoassay, indirect immunofluorescence and hematoxylin-eosin staining were used to determine the diabetic data of MLD-STZ mice. In MLD-STZ mice, the diabetic indicators, including food intake, water consumption, body weight, blood glucose level and serum insulin concentration, developed gradually until week 20. Thereafter, the symptoms of diabetes gradually improved. By the week 36, although body weight and β cell masses remained significantly different between the MLD-STZ mice and the age-matched control animals, food intake, water consumption, blood glucose levels and serum insulin concentrations had all returned to normal levels, and no lymphocytic infiltrations were observed in pancreatic islets. This data demonstrates that MLD-STZ can induce spontaneous recovery from diabetes mellitus in adult mice, suggesting further research into the processes by which normoglycemia is recovered.

Keywords: Streptozotocin; Type 1 diabetes mellitus; Blood glucose; β cell mass; Mouse

糖尿病是严重危害人类健康的常见病和多发病，目前已成为继恶性肿瘤与心脑血管疾患之后的第三位慢性非传染性疾病，主要分为 1 型及 2 型。1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus，T1DM)，即胰岛素依赖型糖尿病，是由 T 细胞介导的针对胰岛 β 细胞的自身免疫性疾病。迄今为止，对其发生、发

收稿日期：2012-12-13；接受日期：2013-01-14
基金项目：山东省自然科学基金 (2009ZRB019FB)；山东省高等学校科技计划项目(J12LK05)
[*]通信作者 (Corresponding author)，E-mail: lirujiang@wfmc.edu.cn
第一作者简介：李如江(1967−)，博士，副教授，研究方向为糖尿病学

展机制尚未完全清晰，对其治疗亦无根治性措施。因此，T1DM 动物模型所处地位非常重要，其模型已经成为现代医学研究 T1DM 无可替代的工具之一。

T1DM 动物模型主要分为诱发型和自发型。自发型 [如 NOD 小鼠 (nonobese diabetic mice)、BB 大鼠 (BioBreeding rats)]可在生长过程中自发产生糖尿病症状、高血糖及胰岛炎症 (胰岛淋巴细胞浸润)等 (Leiter et al，1987；Zipris & Karnieli，2002)，更接近人类 T1DM 发病过程。但此类动物价格昂贵，对饲养条件要求高，尚不能在国内普遍应用 (Bahr et al，2011；Zhao et al，2012)。诱发型常采用化学药物诱导形成，目前，多采用四氧嘧啶或链脲佐菌素 (STZ，2-deoxy-2-(3-methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) 进行诱导。前者诱导的 T1DM 稳定性差，常易自发恢复 (Dunn et al，1944；Wang & Hai，2011)；后者成功率高、稳定性好，业已被国内、外学者广泛使用 (Wang & Hai，2011)。

但我们在实验中发现，多次小剂量 STZ 诱导的迟发型 T1DM 成年小鼠 (MLD-STZ 成年鼠)血糖水平也可自发恢复正常。本研究试图对该现象及发生该现象的 MLD-STZ 成年鼠糖尿病指标进行综合分析和评价。

1　材料与方法

1.1　实验材料

链脲佐菌素 (STZ)购自 Sigma 公司；胰岛素测定试剂盒购自中国原子能科学研究院；鼠抗胰岛素抗体购自武汉博士德生物工程有限公司；TRITC-羊抗小鼠 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司。SPF 级近交系雄性健康 C57BL/6J 小鼠由西安交通大学医学院动物中心提供(合格证号：陕医动字第 08-004)，4 月龄，常规喂养。

1.2　实验方法

1.2.1　造模

取 C57BL/6J 雄性小鼠 70 只，抽签法分为模型组(n=50)和正常对照组(n=20)。模型组禁食不禁水 12 h 后左下腹腔注射 STZ 40 mg/kg (STZ 临用前用 0.01 mol/L，pH 4.2 的枸橼酸缓冲液配成 2% STZ 溶液，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌，并于 10 min 内注射完毕)，1 次/d，连续 5 d。正常对照组禁食不禁水 12 h 后腹腔注射等量枸橼酸缓冲液，1 次/d，连续 5 d。最后一次注射后 1 周内，每天断尾取血，以血糖仪 (罗氏乐康全血糖仪，罗氏诊断有限公司)测量血糖，连续 3 d 血糖>16.7 mmol/L 者为糖尿病小鼠，并将该天定为糖尿病第 1 天。

1.2.2　模型评价指标

(1) 体重、摄食量和饮水量的测定

糖尿病第 4、12、20、28 及 36 周测量并记录小鼠体重、摄食量及饮水量(3 次/周)。

(2) 血糖及血清胰岛素测定

剪尾取血后，用血糖仪直接读取小鼠血糖。将 MLD-STZ 糖尿病鼠空腹摘眼球取血，并设同龄正常对照。采用放射免疫分析法测定血清胰岛素水平，操作按试剂盒说明书进行。

(3) 病理学检查

取胰腺，4%多聚甲醛固定，常规脱水、石蜡包埋并切片，HE 染色后光镜观察。

(4) 免疫荧光检测

取胰腺，4%多聚甲醛固定，常规脱水、石蜡包埋并切片。以鼠抗胰岛素抗体 (1:100)及 TRITC-羊抗小鼠抗体 (1:100)常规免疫荧光检测胰岛 β 细胞。从每个胰腺中取 5 张胰岛素荧光染色切片(断面间隔 100 μm)，荧光显微镜下拍照。以 Image-Pro Plus 5.1 检测胰腺及胰岛 β 细胞总面积，每个胰岛 β 细胞总量为：胰岛 β 细胞总面积/胰腺总面积×胰腺重量(Meier et al，2005)

1.2.3　统计学处理

数据均以 mean±SE 表示。用 SPSS 13.5 版统计软件进行单因素方差分析，组间比较采用 t-test 检验。

2　结　果

2.1　MLD-STZ 鼠血糖水平

糖尿病发生后，6 个个体在第 20～27 周死亡，其他 MLD-STZ 鼠个体血糖水平随时间不断变化。初期持续升高，在第 20 周时达到高峰，随后缓慢恢复(图 1)；第 4 周时，54%的个体血糖>33.3 mmol/L (该血糖仪无法检测>33.3 mmol/L 的血糖，>33.3 mmol/L 显示为 HI)；第 20 周时，90%的个体血糖>33.3 mmol/L；第 28 周时，68%的个体血糖>33.3 mmol/L，且 6%的个体血糖恢复至 10~16.7 mmol/L；第 36 周时，仅 2%的个体血糖>33.3 mmol/L，且 32%的个体血糖已恢复至<10 mmol/L，与同龄正常对照间已无显著性差异[(9.13±0.27) mmol/L, n=10; (9.09±0.32) mmol/L, n=10]。

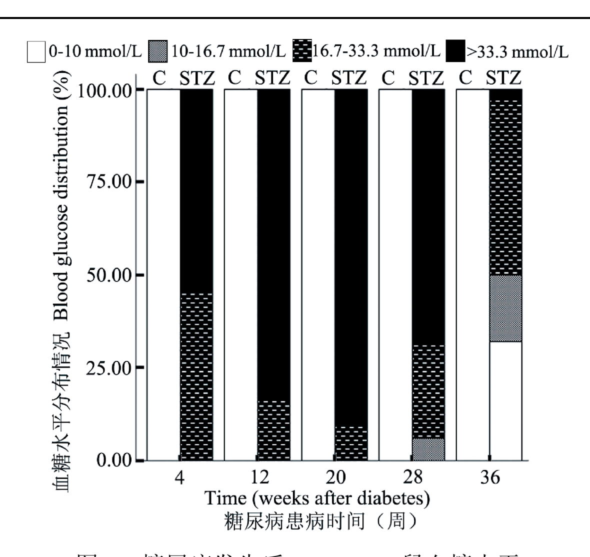


图 1 糖尿病发生后 MLD-STZ 鼠血糖水平

Figure 1 Changes to blood glucose levels in control and MLD-STZ mice over the course of diabetes

C：同龄正常对照（*n*=20)；STZ：MLD-STZ 鼠（*n*=50)。

C: age-matched control mice (*n*=20); STZ: MLD-STZ mice (*n*=50).

2.2 MLD-STZ 鼠体重变化

实验期间，MLD-STZ 鼠体重无显著性改变（图 2)，在第 36 周时，血糖水平恢复正常的原糖尿病小鼠较同龄糖尿病小鼠体重略有增加，但亦无显著性改变[(23±3.2) g，(21±2.7) g，P>0.05，n=10]。但是，MLD-STZ 鼠较同龄正常鼠在糖尿病第 20～36 周时体重显著降低(图 2)。

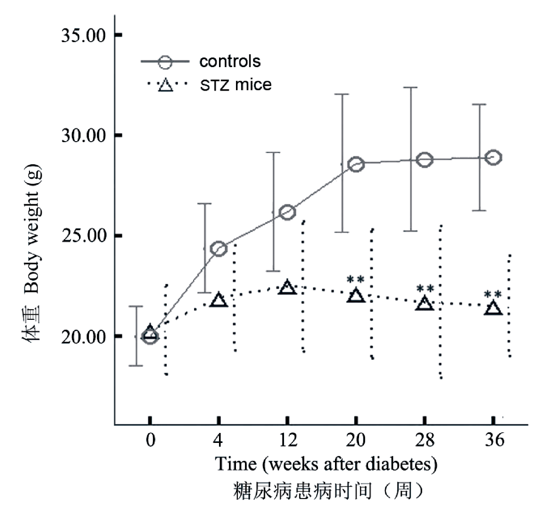


图 2 糖尿病发生后 MLD-STZ 鼠体重变化

Figure 2 Body weight in control and MLD-STZ mice over the course of diabetes

**: P<0.01, n=10.

2.3 MLD-STZ 鼠饮水量变化

糖尿病发生后，MLD-STZ 鼠每天的饮水量较同龄正常对照显著增加，在糖尿病第 12 及 20 周时达到高峰，随后逐渐下降，直至糖尿病第 36 周，仍与正常对照之间差异显著(图 3)。值得注意的是：糖尿病第 36 周时血糖水平恢复正常的 MLD-STZ 小鼠较同龄正常鼠，其饮水量已无显著差异[(5.6±1.5) mL，(6.2±1.3) mL，P>0.05，n=10]。

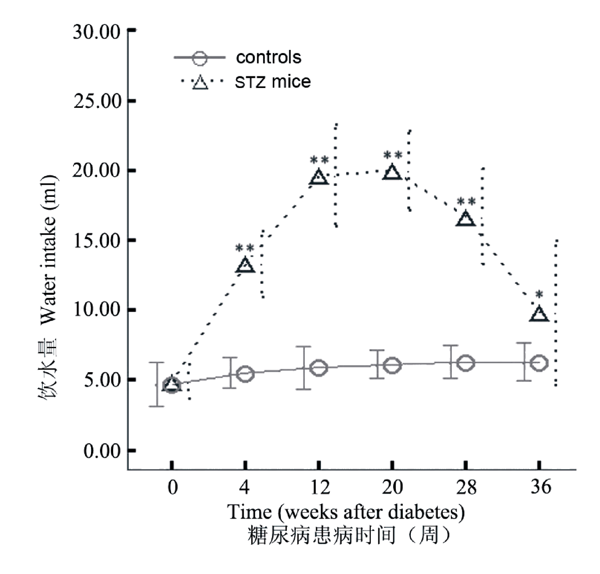


图 3 糖尿病发生后 MLD-STZ 鼠每天饮水量变化

Figure 3 Water intake per day by controls and MLD-STZ mice over the course of diabetes

**: P<0.01, *: P<0.05, n=10.

2.4 MLD-STZ 鼠摄食变化

糖尿病发生后，MLD-STZ 鼠每天的摄食量较同龄正常对照鼠逐渐增加，在糖尿病第 12 及 20 周时达高峰，此时与同龄正常鼠比较存在显著差异，以后 MLD-STZ 鼠的摄食量虽较正常对照鼠为高，但呈逐渐降低的趋势（图 4)。在糖尿病第 36 周时血糖水平恢复正常的 MLD-STZ 鼠较同龄正常鼠，其摄食量已无显著差异[(3.1±0.2) g，n=10；(3.2±0.4) g；P>0.05，n=10]。

2.5 MLD-STZ 鼠血清胰岛素水平

糖尿病发生后，MLD-STZ 鼠血清胰岛素水平随时间不断变化：初期持续降低，在糖尿病第 12 及 20 周时到达低谷。第 36 周时糖尿病鼠血清胰岛素水平已有所回升，但与正常对照鼠比较仍差异显著，但是，此时血糖水平恢复正常的 MLD-STZ 鼠(RM9)血清胰岛素水平与正常对照鼠(CM9)之间差异不显著(图 5)。

2.6 胰腺组织病理

MLD-STZ 糖尿病鼠胰岛数量减少，胰岛内分

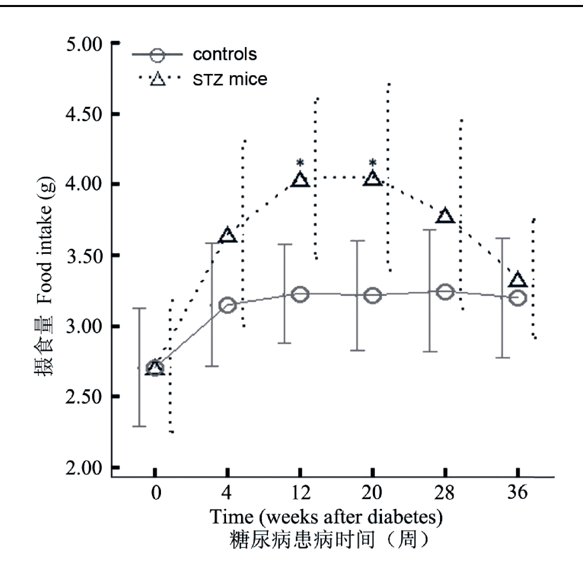


图 4　糖尿病发生后 MLD-STZ 鼠每天摄食量变化

Figure 4　Food intake per day by control and MLD-STZ mice over the course of diabetes

*: P<0.01, n=10.

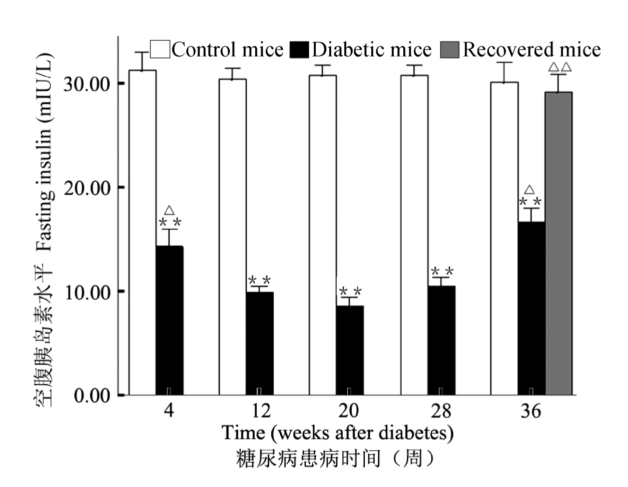


图 5　糖尿病发生后 MLD-STZ 鼠血清胰岛素水平

Figure 5　Serum insulin levels in control and MLD-STZ mice over the course of diabetes

与同龄正常对照鼠比较，＊＊：P<0.01；与第 20 周糖尿病鼠比较，△：P<0.05，△△：　P<0.01。n=5。

＊＊: P<0.01 *vs*. age-matched control mice, △: P<0.05, △△: P<0.01 *vs*. diabetic mice after 20 weeks of diabetes. n=5.

泌细胞排列紊乱，其间可见淋巴细胞浸润。糖尿病第 36 周，血糖水平恢复正常的原糖尿病鼠胰岛内未见淋巴细胞浸润，胰岛内分泌细胞呈索条状或团状排列，与正常对照无明显差别 (图 6)。

2.7　胰岛素免疫荧光检测

自糖尿病第 20 周起，MLD-STZ 鼠胰岛 β 细胞量呈增长趋势。尽管在糖尿病第 36 周时血糖水平恢复正常的原糖尿病鼠胰腺 Insulin 阳性细胞量未及正常对照水平，但较第 20 周时已显著增加，为第 20 周时糖尿病鼠的 7.1 倍 (图 7，图 8)

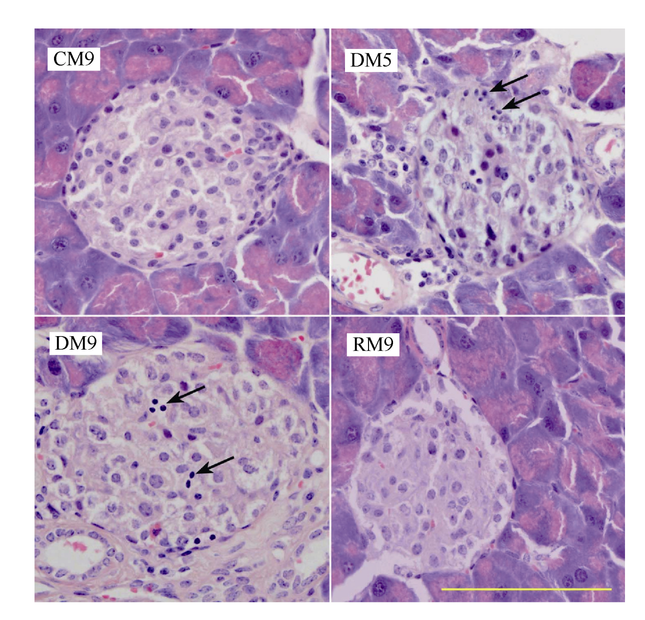


图 6　正常鼠及 MLD-STZ 鼠胰腺 HE 染色

Figure 6　Pancreas in control and MLD-STZ mice with Hematoxylin-eosin staining

箭头显示 MLD-STZ 糖尿病鼠胰岛内的少量淋巴细胞浸润；CM9：糖尿病第 36 周同龄正常对照鼠；DM5：糖尿病第 20 周 MLD-STZ 糖尿病鼠；DM9：糖尿病第 36 周 MLD-STZ 糖尿病鼠；RM9：糖尿病第 36 周，血糖恢复正常的 MLD-STZ 鼠。n=5，Bar=100 μm。

Arrows indicate lymphocytes. CM9: matched control of diabetic mice after 36 weeks of diabetes; DM5: diabetic mice after 20 weeks of diabetes; DM9: diabetic mice after 36 weeks of diabetes; RM9: recovered MLD-STZ mice after 36 weeks of diabetes. n=5. Bar=100 μm.

3　讨　论

STZ 是链霉素菌来源的毒性物质，可通过其葡萄糖结构为胰岛 β 细胞表面的葡萄糖转运蛋白 GLUT2 所转运，从而特异性损伤胰岛 β 细胞，并诱导多种动物 T1DM 的发生 (Elsner et al，2000)。一次大剂量 STZ 可直接损伤大量胰岛 β 细胞，使糖尿病迅速发生，短期内即达到 T1DM 的临床症状期，但此模型无胰岛炎症，与 T1DM 病人的实际病理特征尚有差距 (Elsner et al，2000)。多次小剂量 STZ (MLD-STZ)虽仅损伤少量胰岛 β 细胞，但可诱发针对胰岛 β 细胞的细胞免疫，从而诱发迟发型 T1DM，且该模型病理改变和临床表现等均类似于人的 T1DM，是目前研究 T1DM 最常用的理想模型之一 (Karabatas et al，2005)。

在本实验中，我们复制了 MLD-STZ 诱导的 T1DM 模型 (Like & Rossini，1976；Karabatas et al，2005)。造模成功后，小鼠血糖升高，逐渐出现多饮、

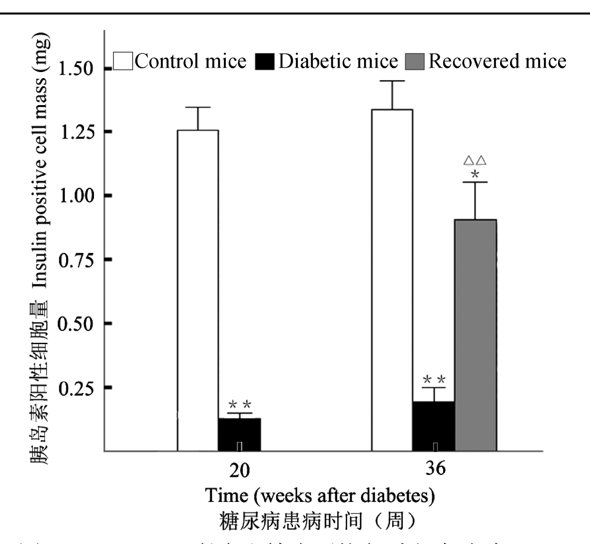


图 7　MLD-STZ 鼠在血糖水平恢复过程中胰腺 Insulin 阳性细胞量的变化

Figure 7　Changes to insulin-positive cell mass in MLD-STZ mice during recovery from hyperglycemia

与同龄正常对照鼠比较，*：$P<0.05$，　**：$P<0.01$；与第 20 周糖尿病鼠比较，△△：$P<0.01$。$n=5$。

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ vs. age-matched control mice; △△: $P<0.01$ vs. diabetic mice after 20 weeks of diabetes. $n=5$.

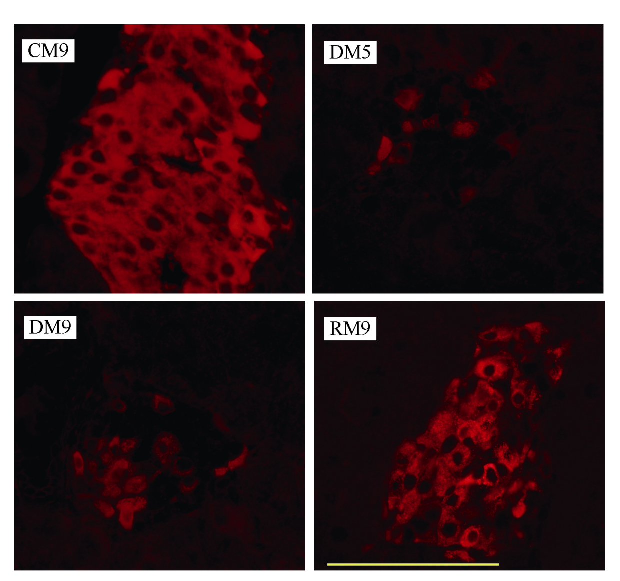


图 8　正常对照和 MLD-STZ 鼠胰腺 Insulin 免疫荧光染色

Figure 8　Immunofluorescent staining of insulin in pancreata from control and MLD-STZ mice

CM9：糖尿病第 36 周同龄正常对照鼠；DM5：糖尿病第 20 周 MLD-STZ 糖尿病鼠；DM9：糖尿病第 36 周 MLD-STZ 糖尿病鼠；RM9：糖尿病第 36 周，血糖恢复正常的 MLD-STZ 鼠。胰岛素：TRITC 标记（红色），$n=5$，Bar=100 µm。

CM9: matched control of diabetic mice after 36 weeks of diabetes; DM5: diabetic mice after 20 weeks of diabetes; DM9: diabetic mice after 36 weeks of diabetes; RM9: recovered MLD-STZ mice after 36 weeks of diabetes. Insulin: labeled by TRITC (red), $n=5$. Bar=100 µm.

多食及体重减轻等典型糖尿病症状，胰腺病理分析发现胰岛出现淋巴细胞浸润。即多次小剂量 STZ 诱导的糖尿病与人类 1 型糖尿病在胰岛病变及临床症状等方面存在诸多相似之处，这与前人的研究结果相一致 (Karabatas et al，2005)。

一般认为，STZ 诱导的新生鼠糖尿病，其血糖可随胰岛 β 前体细胞的增生而逐渐恢复正常 (Hartmann et al，1989；Wang et al，1994)，但对成年鼠，STZ 诱导形成糖尿病后，由于胰岛 β 细胞增生能力有限，糖尿病鼠通常因持续高血糖而死亡 (Li et al，2003；Bouwens & Rooman，2005)。然而许多实验已经表明，STZ 诱导的成年鼠糖尿病，其血糖水平也可恢复正常，不过这些模型鼠糖尿病为 STZ 大剂量注射所致，其胰岛内或无炎性浸润，病理改变与人类 1 型糖尿病差距较大 (Song et al，2007；Su et al，2000)

在本实验中，多次小剂量 STZ 诱导的糖尿病小鼠血糖水平也可自行恢复正常。该 MLD-STZ 鼠的血糖值在糖尿病第 20 周时达到高峰，此后缓慢恢复，至第 28 周时已有 6%的个体血糖恢复至 10~16.7 mmol/L，<16.7 mmol/L 的糖尿病诊断标准；至第 36 周时，有 32%的个体血糖恢复至<10 mmol/L，与同龄正常对照比较已无显著差异，说明其血糖值已恢复至正常范围。

同时，我们在实验中还发现，尽管 MLD-STZ 鼠体重随血糖水平的正常化无明显增加，但其摄食量及饮水量均伴随血糖水平恢复逐渐改善，至糖尿病 36 周时已与正常对照间无显著差异，此结果说明多次小剂量 STZ 诱导的糖尿病小鼠，不仅其血糖水平可自行恢复，其糖尿病症状也可逐渐消失。另外，血糖水平恢复正常的原糖尿病小鼠胰岛内已无淋巴细胞浸润，胰岛内分泌细胞也呈索状团状排列，血清胰岛素水平也已恢复正常。以上诸多结果皆说明多次低剂量 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠随患病时间延长逐渐进入糖尿病康复期，至第 36 周时已有部分糖尿病小鼠完全康复，至少是临床性完全康复。因此，多次小剂量 STZ 诱导的糖尿病小鼠不仅为 1 型糖尿病的发生、发展提供了研究模型，更重要的是也为 1 型糖尿病的康复性研究、甚至为糖尿病的有效治疗提供了研究支撑。

参考文献：

Bahr J, Klöting N, Klöting I, Follak N. 2011. Transplantation of adipose tissue protects BB/OK rats from type 1 diabetes development. *Transplant Immunology,* **24**(4): 238-240.

Bouwens L, Rooman I. 2005. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiological Reviews,* **85**(4): 1255-1270.

Dunn JS, Duffy E, Gilmour MK, Kirkpatrick J, McLetchie NG. 1944. Further observations on the effects of alloxan on the pancreatic islets. *The Journal of Physiology,* **103**(2): 233-243.

Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. 2000. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia,* **43**(12): 1528-1533.

Hartmann K, Besch W, Zühlke H. 1989. Spontaneous recovery of streptozotocin diabetes in mice. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes,* **93**(2-3): 225-230.

Karabatas LM, Pastorale C, de Bruno LF, Maschi F, Pivetta OH, Lombardo YB, Chemes H, Basabe JC. 2005. Early manifestations in multiple-low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice. *Pancreas,* **30**(4): 318-324.

Leiter EH, Prochazka M, Coleman DL. 1987. The non-obese diabetic (NOD) mouse. *American Journal of Pathology,* **128**(2): 380-383.

Li L, Seno M, Yamada H, Kojima I. 2003. Betacellulin improves glucose metabolism by promoting conversion of intraislet precursor cells to β-cells in streptozotocin-treated mice. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism,* **285**(3): E577-583.

Like AA, Rossini AA. 1976. Streptozotocin-induced pancreatic insulitis: new model of diabetes mellitus. *Science,* **193**(4251): 415-417.

Meier JJ, Bhushan A, Butler AE, Rizza RA, Butler PC. 2005. Sustained beta cell apoptosis in patients with long-standing type 1 diabetes: indirect evidence for islet regeneration?. *Diabetologia,* **28**(11): 2221-2228.

Song Y, Piao SL, Sheng CH, Chang Y, Jin ZX, Zhang GZ. 2007. Improved investigation of C57BL mice T1DM model induced by STZ. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis,* 11(1): 36-39. [宋旸, 朴松兰, 盛春华, 常颖, 金正贤, 张桂珍. 2007. STZ 诱导 C57BL 小鼠 T1DM 模型优化的研究. 中国实验诊断学, 11(1): 36-39.]

Su EN, Alder VA, Yu DY, Yu PK, Cringle SJ, Yogesan K. 2000. Continued progression of retinopathy despite spontaneous recovery to normoglycemia in a long-term study of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology,* **238**(2): 163-173.

Wang RN, Bouwens L, Klöppel PG. 1994. Beta-cell proliferation in normal and streptozotocin-treated newborn rats: site, dynamics and capacity. *Diabetologia,* **37**(11): 1088-1096.

Wang X, Hai CX. 2011. Study of Animal models of diabetes mellitus. *Journal of Toxicology,* **25**(5): 387-390. [王欣, 海春旭. 2011. 糖尿病动物模型研究进展. 毒理学杂志, 25(5): 387-390.]

Zhao YY, Huang XY, Chen ZW. 2012. Daintain/AIF-1 (Allograft Inflammatory Factor-1) accelerates type 1 diabetes in NOD mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* **427**(3): 513-517.

Zipris D, Karnieli E. 2002. A single treatment with IL-4 via retrovirally transduced lymphocytes partially protects against diabetes in BioBreeding (BB) rats. *Journal of Oncology Practice,* **3**(3): 76-82.

动 物 学 研 究 2013，Jun. 34(3): 244−248　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI:10.11813/j.issn.0254-5853.2013.3.0244

毛脚鵟细胞体外培养体系建立及三种组织来源细胞特性分析

刘　刚，道日娜，王蓉蓉，李云霞，戴雁峰，李喜和，李　煜，李　瑶*

内蒙古大学 蒙古高原动物遗传资源研究中心，内蒙古 呼和浩特　010021

摘要：用组织块培养法对毛脚鵟不同组织进行原代培养，获得了 3 种不同组织来源的细胞，并成功对细胞进行了冷冻保存和复苏。在传代培养过程中，对比分析了 3 种组织来源细胞的形态学、生长曲线、贴壁率、核型等生物学特性。形态学方面，3 种来源细胞均为成纤维样细胞。对于 3 种组织来源细胞的贴壁能力分析显示，输卵管源细胞最强，肺源细胞和气管源细胞次之。3 种不同组织来源细胞的倍增时间分别为(29.91±0.39)、(33.18±0.21)和(30.67±0.28) h，群体倍增次数分别为 3.54±0.01、4.52±0.02 和 4.38±0.03。毛脚鵟细胞的染色体数目为 $2n$=68，性染色体为典型的 ZW 型。本实验为今后毛脚鵟细胞利用、遗传信息的保存及生物学特性的深入研究提供实验材料和依据。

关键词：毛脚鵟；细胞培养；生长曲线；细胞贴壁率；核型分析
中图分类号：Q959.7^{+}24; Q253　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2013)03-0244-05

Establishment of cell culture system of rough-legged buzzard and biological characteristic analysis on different tissue cells cultured *in vitro*

Gang LIU, Daorina, Rong-Rong WANG, Yun-Xia LI, Yan-Feng DAI, Xi-He LI, Yu LI, Yao LI*

Institute of Animal Genetic Resources of Mongolia Plateau Inner Mongolia University, Huhhot　010021, *China*

Abstract: In total, three different tissues from the rough-legged buzzard were obtained by culture and successfully cryopreserved and then recovered. During the subculture process, biological characteristics including as cell morphology, growth curve, cell adhesion rate, and karyotype were analyzed and compared, and overall all three kinds of tissue cells exhibited fibroblast-like growth. Oviduct-derived cells had the strongest adherent ability, followed by lung-derived cells and trachea-derived cells. The doubling times of lung-derived cells, trachea-derived cells, and oviduct-derived cells were 29.91±0.39 h, 33.18±0.21 h, and 30.67±0.28 h, respectively, with population doubling times 3.54±0.01, 4.52±0.02, and 4.38±0.03, respectively. Likewise, we noted the chromosome number of the rough-legged buzzard was 68, within the typical type of ZW. These results may potentially provide material and a basis for further research in the field, with the successful preservation of genetic information of rough-legged buzzard.

Keywords: Rough-legged buzzard; Cell culture; Growth curve; Cell adhesion rate; Karyotype analysis

动物遗传资源是自然资源的重要组成部分，是人类社会赖以生存和发展的生物资源，是满足人类食物与健康需求的直接来源，同时也是国家重大战略性基础资源 (Liu et al，2005)。

近年来，随着人类经济活动的不断发展，自然资源和生态系统平衡遭到严重破坏 (Hu et al, 2002)。由于环境污染、鸟类栖息地丧失和碎裂化等原因 (Huang et al，2008)，一些地区的鸟类，尤其是处于生态食物链顶层的大型猛禽种类 (Jia et al, 2008)日趋减少，对当地的生物多样性构成了直接威胁，因此，对于大型猛禽的保护以及遗传信息的保存问题越发重要。

毛脚鵟 (*Buteo lagopus*)隶属鸟纲隼形目鹰科鵟属，在蒙古高原属冬候鸟 (Xiao et al, 2001)，在国内分布于内蒙古、东北及华北等地，保护级别为 CITES 附录Ⅱ(Liu et al, 2010; MacKinnon & Phillipps, 2000; Meng et al, 2008; Qiao et al, 2009)。

对毛脚鵟的保护首先要保护其生存环境，而更

收稿日期：2012-12-17；接受日期：2013-03-05
基金项目：国家科技部农业科技成果转化资金项目(2007GB2A400047)
*通信作者 (Corresponding author)，E-mail: liyao@life.imu.edu.cn

重要的工作是对其遗传信息进行有效保存。由于材料难以获得，目前国内对于毛脚鵟的研究仅停留在其形态学方面，而对其细胞特性及遗传信息方面的研究尚未见报道。本文建立了稳定的毛脚鵟细胞培养体系，并分析比较了培养所得的第三代毛脚鵟肺源细胞 (lung tissue cells)、气管源细胞 (trachea tissue cells)及输卵管源细胞 (oviduct tissue cells)的特性，为进一步展开毛脚鵟细胞生物学、基因组学及保护生物学等相关研究提供可靠的材料平台。

1　材料与方法

1.1　试剂

本研究所用试剂包括 MEM alpha 培养基(GIBCO)、胎牛血清(HyClone)、0.25%胰蛋白酶−0.02%EDTA 消化液 (GIBCO)、新生牛血清 (杭州四季青)及胰岛素(江苏万邦生化医药股份有限公司)等。

1.2　实验方法

1.2.1　取材

雌性毛脚鵟一只，取材自呼和浩特市白塔飞机场，由于挂网严重受伤，于 2011 年 11 月 30 日濒亡，及时将其用 0.2%新吉尔灭浸泡后，取出其肺、气管及输卵管等组织，浸泡在无菌生理盐水 (4 ℃)中，并于 30 min 内带入无菌室。

1.2.1　原代培养

无菌操作取部分肺、气管及输卵管组织，在 75%酒精中浸泡 2～3 s，PBS 冲洗 3 次；将其剪成～1 mm^3 的组织块，均匀贴于培养瓶内，静置培养 2 h；加入 5 mL 含 10%胎牛血清及 0.4 U/mL 胰岛素的 MEM alpha 完全培养基，放入 39.5 ℃，5% CO_2 培养箱中培养。

1.2.2　传代培养

取细胞汇合度为 75%～85%的细胞，吸去培养液，1 mL PBS 洗涤 3 次；加入 1 mL 0.25%胰蛋白酶-0.02%EDTA 消化液消化 2～3 min 后，加入等量的 MEM alpha 完全培养液终止消化，吹打悬浮细胞，1 000 r/min 离心 5 min，弃上清；加入 1 mL MEM alpha 完全培养液悬浮细胞，以 1×10^6/mL 细胞密度接种于培养瓶中，放入 CO_2 培养箱培养；12 h 后换液，继续培养 (Lu t al，2008)。

1.2.3　冷冻保存

及时对每一代培养细胞进行冷冻保存，取细胞汇合度为 75%～85%的细胞，吸去培养液，1 mL PBS 洗涤 3 次；加入 1 mL 0.25%胰蛋白酶-0.02% EDTA 消化液，待显微镜下细胞收缩变圆后，加入等量的 MEM alpha 完全培养基，1 000 r/min 离心 5 min，弃上清；缓慢加入含有 10% MSO 的新生牛血清，制成细胞悬液，静置 5 min 后，移入冻存管；在−80 ℃冰箱中保存 24 h 后，转入液氮内冻存。

1.2.4　细胞贴壁率计算

将 3 种不同组织来源的培养细胞分别以一定浓度接种于 35 mm 培养皿中，放入培养箱中培养 6 h 后，吸取上清液，细胞计数，获得上清液中细胞数，并计算贴壁率[贴壁率= (接种细胞数−上清细胞数)/接种细胞数×100%)。每组实验重复 3 次，并于培养 12 h 及 24 h 后各重复以上实验。

1.2.5　生长曲线绘制

将 3 种不同组织来源的培养细胞分别以一定浓度接种于 24 孔板内，放入培养箱中培养，每 24 h 取 3 个孔培养细胞进行计数，计数 8 d 后绘制 3 种组织来源培养细胞的生长曲线，计算细胞倍增时间及其群体倍增次数 (Hou et al，2004) 。

细胞倍增时间计算公式：

$DT=t\times[\lg2/(\lg Nt-\lg N_0)]$

DT:细胞倍增时间；t:培养时间；Nt:t 时间时的细胞数；N_0:首次计数时的细胞数。

群体倍增次数 X 计算公式： $X=(\lg N_H-\lg N_1)/\lg2$

N_H：对数期末收获细胞数；N_1：接种细胞数。

1.2.6　复苏存活率对比

液氮中冻存一月后，将冻存管从液氮中取出，立即投入 40 ℃温水中，迅速搅动直至管内冰晶融化，将液体转移至含有 5 mL 完全培养基的离心管中，静置 5 min，1 000 r/min 离心 5 min；向细胞沉淀中加入 1 mL 完全培养基，悬浮细胞；取 100 μL 细胞悬液，加入 100 μL 4%台盼蓝母液，静置 5 min 后，镜检并计算复苏后细胞存活率。

1.2.7　核型分析

取第 4 代生长旺盛细胞，换液 12 h 后，向培养基中补加 0.1 mL 终浓度为 0.1 mg/mL 的秋水仙素；3.5 h 后收获细胞，向细胞沉淀中缓缓加入 10 mL 40 ℃预热的 KCl 低渗液 (0.075 mol/L)，轻悬细胞；常温下低渗处理 20 min，低渗结束前 1 min，加入 1 mL 新鲜的固定液 (甲醇:冰乙酸=3:1)，2 000 r/min 离心 10 min，弃上清；向沉淀中缓慢加入 10 mL 固定液，轻悬细胞，固定 30 min 后，2 000 r/min 离心 10 min，

弃上清；再次重复以上固定程序；在细胞沉淀中加入 0.5 mL 固定液，轻轻吹打制成细胞悬液，滴片；Giemsa 染液处理 15 min，流水冲洗，自然晾干后行镜检、照相及核型分析 (Zhang et al, 2011; Tai et al, 2011)。

1.2.8 统计学分析

实验数据以 mean±*SD* 表示, 并采用 SPSS19.0 软件进行单因子分析和相关分析，显著性水平 α=0.05，P<0.05 为差异显著。

2 结 果

2.1 毛脚鵟培养细胞的形态

自毛脚鵟细胞原代培养第 4 天开始，逐渐有细胞从组织块周边游离出来，细胞长势缓慢，需要 30 d 才能铺满培养瓶。显微镜下，肺源细胞 (A)、气管源细胞 (B)及输卵管源细胞(C)均呈成纤维型生长(图 1)。肺源细胞和输卵管源细胞虽然在形态上相似，但是在其生长过程中，后者的细胞间隙较大，分泌物较多。

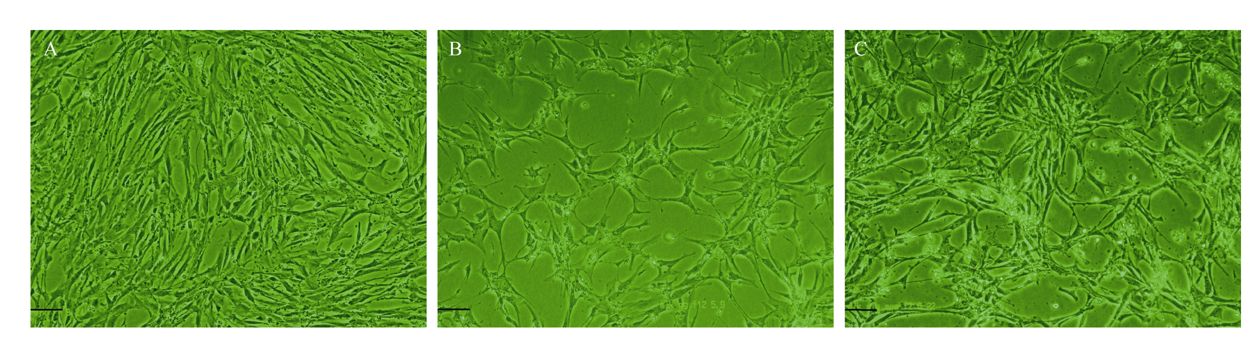


图 1 毛脚鵟不同组织来源细胞形态学观察 (×100)

Figure 1 Morphologies of fibroblast cells from lung, trachea and oviduct tissue (×100)

A: 肺源细胞；B: 气管源细胞；C：输卵管源细胞；标尺=100 μm。

A: Cells from lung tissue; B: cells from trachea tissue; C: cells from oviduct tissue; Bar=100 μm.

2.2 细胞贴壁率计算

分别于接种后 6、12、24 h 细胞计数，并计算细胞贴壁率 (表 1)。3 种组织来源细胞的细胞贴壁率随时间的增加而逐渐增加，3 个时间段中输卵管来源细胞的贴壁率与其余两者相比，均具显著性优势，而肺来源细胞和气管来源细胞的细胞贴壁率仅在接种 24 h 后，才呈现显著性差异 (P<0.05)。

表 1 毛脚鵟不同组织细胞贴壁率 (%)

Table 1 Cell attachment rates of tissue cells (%)

	6 h Mean±*SD*	12 h Mean±*SD*	24 h Mean±*SD*
肺源细胞 Lung tissue cells	73.42^{b}±0.10	81.14^{b}±3.14	85.53^{c}±1.83
气管源细胞 Trachea tissue cells	76.24^{b}±0.10	80.28^{b}±0.76	86.72^{b}±0.78
输卵管源细胞 Oviduct tissue cells	84.73^{a}±1.38	88.93^{a}±0.68	94.92^{a}±1.23

n=3；同列中不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。

n = 3; Letters in the same column denote level of significance at P<0.05.

2.3 毛脚鵟细胞生长曲线

肺源细胞、气管源细胞及输卵管源细胞连续计数 8 d (表 2)。并根据表中数据绘制生长曲线 (图 2)，计算细胞倍增时间。结果表明，以上 3 种组织细胞的倍增时间分别为(29.91±0.39)、(33.18±0.21)及(30.67±0.28) h，群体倍增次数分别为 3.54±0.01、4.52±0.02 及 4.38±0.03。

表 2 毛脚鵟不同组织细胞计数结果 (10^4/mL)

Table 2 Counting results of tissue cells (10^4/mL)

天数 Day	肺源细胞 Lung tissue cells	气管源细胞 Trachea tissue cells	输卵管源细胞 Oviduct tissue cells
0	2.4	2.7	1.5
1	4.89±0.21	15.06±0.37	6.14±0.24
2	5.28±0.21	22.78±0.32	10.14±0.22
3	10.92±0.32	36.58±0.54	17.75±0.48
4	18.08±0.32	62.11±0.83	31.28±0.46
5	28.00±0.35	69.22±0.45	33.19±0.37
6	30.72±0.49	72.31±0.58	36.86±0.40
7	32.50±0.25	79.08±0.50	39.44±0.62
8	33.08±0.33	80.81±0.39	36.78±0.35

2.4 复苏存活率对比

细胞复苏后，台盼蓝染色，镜检，计算细胞复苏存活率 (表 5)。在同样的冻存体系中，气管来源细胞复苏存活率最高，并较其余两者均有差异显著 (P<0.05)，说明气管来源细胞对于本研究采用的冻存方法具有较强的适应性。

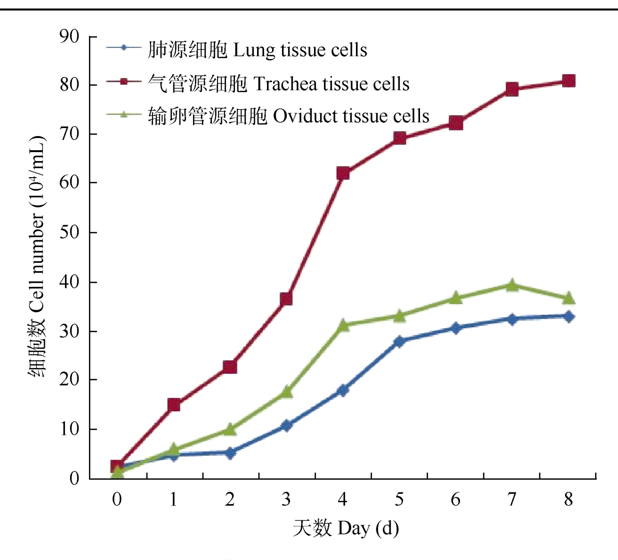


图 2　毛脚鵟不同组织细胞生长曲线图
Figure 2　Growth curves of different cells

2.5　毛脚鵟细胞核型分析

90%的毛脚鵟细胞（n=50）中期分裂相的染色体数目均为 68 条，即其染色体数目为 2n=68。核型配对结果（图 3）显示，毛脚鵟染色体中含有 5 对微小染色体，形态不能完全识别，且其性染色体与常染色体形态明显不同，呈蝌蚪状。

表 3　毛脚鵟不同组织细胞倍增时间 (h)
Table 3　Cell doubling time of tissue cells

肺源细胞 Lung tissue cells Mean±*SD*	气管源细胞 Trachea tissue cells Mean±*SD*	输卵管源细胞 Oviduct tissue cells Mean±*SD*
(29.91±0.39)^c	(33.18±0.21)^a	(30.67±0.28)^b

n=3；同行中不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。
n=3; Letters in the same line denote level of significance at P<0.05.

表 4　毛脚鵟不同组织细胞的群体倍增次数
Table 4　Cell population doubling times of tissue cells

肺源细胞 Lung tissue cells Mean±*SD*	气管源细胞 Trachea tissue cells Mean±*SD*	输卵管源细胞 Oviduct tissue cells Mean±*SD*
3.54±0.01^c	4.52±0.02^a	4.38±0.03^b

n=3；同行中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
n=3; Letters in the same line denote level of significance at P<0.05.

表 5　毛脚鵟三种组织来源细胞复苏后细胞存活率(%)对比
Table 5　Comparison of cell survival rate after being thawed

肺源细胞 Lung tissue cells Mean±*SD*	气管源细胞 Trachea tissue cells Mean±*SD*	输卵管源细胞 Oviduct tissue cells Mean±*SD*
70.05±0.87^b	78.16±0.81^a	68.16±0.38^b

n=3；同行中不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。
n=3; Letters in the same line denote level of significance at P<0.05.

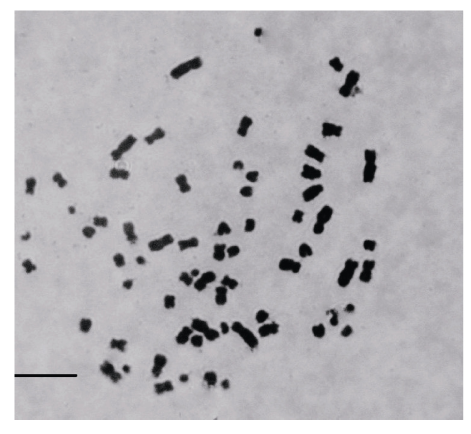



图 3　毛脚鵟细胞的中期分裂相和核型图
Figure 3　Metaphase and ideogram of rough-legged buzzard cells (Bar=10 μm)

3　讨　论

3.1　细胞培养方法

组织块贴壁培养法是目前最常用的细胞建系方法，与胰酶消化法相比，具有操作简便、对细胞损害小等特点，且长出的细胞整齐有序。本实验采用组织块贴壁法对毛脚鵟 3 种组织块进行贴壁培养，获得了 3 种不同组织来源的细胞。

实验发现，毛脚鵟 3 种组织块接种时组织块的大小、接种密度及培养温度对细胞生长十分重要，接种时组织块以大小～1 mm^3，间隔～0.5 cm 为宜，培养温度需严格控制在 39.5 ℃。

3.2　细胞培养体系及保存

本实验后续采用了 4 种不同的培养体系，基本培养基分别为 M199、DMEM、DMEM/F12 及 MEM alpha，并分别了添加 10%胎牛血清及 4 U/mL 速效胰岛素，结果发现，毛脚鵟 3 种不同组织来源的细胞在 M199、DMEM/F12 及 MEM alpha 中的各项生

物学特性基本一致。目前，本研究获得的气管来源、肺来源及输卵管来源细胞在 MEM alpha 体系中已分别传至 33、18 及 13 代，且生物学特性基本保持不变。能够在如此高传代数下仍保持其生物学特性在禽类细胞培养过程中是比较罕见的，可以充分说明本研究所采用的培养体系成功保存了毛脚鵟 3 种组织来源细胞。

3.3 染色体分析

在国内，由于材料难以获得，故罕见猛禽类的染色体研究报道。本研究探索了毛脚鵟细胞染色体分析制备方法。细胞处于对数生长期时，更换培养液，12 h 后向培养液中添加终浓度为 0.1 μg/mL 的秋水仙素，处理 3 h。若处理时间过长，染色体将严重浓缩，油镜下不能辨认微小染色体，而若处理时间不足，则会导致分裂中期的细胞数据较少。低渗处理可使细胞膨胀，有利于染色体分散，减少或避免染色体重叠现象，便于观察。低渗液一般采用 0.075 mol/L KCl，根据本研究结果，室温下低渗处理 40～60 min 足以裂解细胞。

大多数鹰科猛禽动物核型相似，染色体条数主要集中在 66 或 68 条，具有 3～5 对微小染色体和较多均匀长度染色体 (Amaral & Jorge,2003)。目前已有核型报道的九种鵟属动物中，除红尾鵟 ($2n$=70) 外，核型均为 $2n$=68。

本研究结果表明，新构建的毛脚鵟肺源、气管源及输卵管源细胞在体外的稳定培养、传代保存以及培养体系的建立将为进一步展开其细胞生物学、遗传学等研究提供可靠的资料平台。

参考文献：

Amaral KF, Jorge W. 2003. The chromosomes of the Order Falconiformes: a review. *Ararajuba,* **11**(1): 65-73.

Hou Y, Zhang DM, Chen L. 2004. Effect of different types of serum on the passage of goat fibroblasts. *Journal of Huaibei Industry Teachers College: Natural Sciences Edition,* **25**(4): 62-65. [侯颖, 张大铭, 陈亮. 2004. 不同血清对山羊成纤维细胞传代的影响. 淮北煤炭师范学院学报, **25**(4): 62-65.]

Hu JC. 2002. Diversity of terrestrial vertebrates in Minshan Mountains. *Zoological Research,* **23**(6): 521-526. [胡锦矗. 2002. 岷山山系陆栖脊椎动物多样性. 动物学研究, **23**(6): 521-526.]

Huang ZH, Liu B, Chen D, Chen PJ, Xi ZF. 2008. Bird diversity of Gan River in Ji'an, Anhui Province. *Sichuan Journal of Zoology,* **27**(4): 610-617. [黄族豪, 刘宾, 陈东, 陈佩君, 习志富. 2008. 安徽赣江吉安段鸟类多样性研究. 四川动物, **27**(4): 610-617.]

Jia SB, Yan HC, Liu T, Ji XL. 2008. Ecological distribution of raptors in west Shandong. *Sichuan Journal of Zoology,* **27**(5): 897-899. [贾少波, 闫华超, 刘涛, 冀相伦. 2008. 山东西部地区猛禽的生态分布. 四川动物, **27**(5): 897-899.]

Liu XB, Guan WJ, Zhang HH, Li H, Li LF. 2005. Conservation of genetic resources of the endangered animals. *Review of China Agricultural Science and Technology,* **7**(5): 34-38. [刘希斌, 关伟军, 张洪海, 李晗, 李林风. 2005. 濒危动物遗传资源的保存. 中国农业科技导报, **7**(5): 34-38.]

Liu Z, Yang CW, Tian HJ, Jin JL, Jin ZM, Ju YF. 2010. Phylogenetic relationship among 12 falconformes based on CHD Gene sequences. *Biotechnology Bulletin,* (6): 179-184. [刘铸, 杨春文, 田恒久, 金建丽, 金志民, 鞠永富. 2010. 基于CHD基因序列的隼形目12种鸟系统发育关系. 生物技术通报, (6): 179-184.]

Lu TF, Liu CQ, Wu HM, Zhang YY, Liu S, Bao AD, Zhang WX, Guan WJ, Ma YH. 2008. An research of the growth rule of cells cultured in vitro of livestock and poultry. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine,* **35**(11): 65-69. [陆涛峰, 刘长青, 吴宏梅, 张艳艳, 刘帅, 包阿东, 张文秀, 关伟军, 马月辉. 2008. 畜禽体外细胞生长规律研究. 中国畜牧兽医, **35**(11): 65-69.]

MacKinnon J, Phillipps K. 2000. A Field Guide to the Birds of China. Changsha: Hunan Education Press. [马敬能·约翰, 菲利普·卡伦. 2000. 中国鸟类野外手册. 长沙: 湖南教育出版社.]

Meng DR, Wang CJ, Cao CH, Zhang L. 2008. A preliminary survey of the raptors in Cangzhou, Hebei. *Chinese Journal of Zoology,* **43**(6): 127-130. [孟德荣, 王春杰, 曹春辉, 张莉. 2008. 河北沧州地区猛禽初步调查. 动物学杂志, **43**(6): 127-130.]

Qiao L. 2009. Study on time activity budget of rough-legged buzzard *Buteo lagopus* in spring in 2008. *Natural Science Journal of Harbin Normal University,* **25**(1): 89-92. [乔良. 2009. 2008 年春季毛脚鵟活动节律的研究. 哈尔滨师范大学自然科学学报, **25**(1): 89-92.]

Tai DP, Liu K, Terigele, Hou DX, Li Y, Li Y. 2011. The biological characteristic analysis on three different chicken embryo tissue cells cultured *in vitro*. *Chinese Journal of Cell Biology,* **33**(9): 988-993. [邰大鹏, 刘坤, 特日格乐, 侯东霞, 李瑶, 李煜. 2011. 鸡胚三类组织体外培养细胞的生物学特性分析. 中国细胞生物学学报, **33**(9): 988-993.]

Xiao YX, Qiu YX. 2001. The histological studies on the ovary of *Buteo lagopus*. *Chinese Journal of Zoology,* **36**(3): 19-22. [肖义秀, 邱幼祥. 2001. 毛脚鵟卵巢的组织学观察. 动物学杂志, **36**(3): 19-22.]

Zhang JN, Liu YB, Zhang JD, Su J, Li YX, Sun W, Zhao LX, Guo JT, Li XH. 2011. Karyotyping of Arab horse by G-banding technique. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica,* **26**(2): 101-106. [张静南, 刘永斌, 张金吨, 苏杰, 李云霞, 孙伟, 赵丽霞, 郭继彤, 李喜和. 2011. 阿拉伯马染色体 G 带核型分析. 华北农学报, **26**(2): 101-106.]



双月刊(双月8日出版)，1980年创刊
第34卷第3期，Vol.34 No.3

ZOOLOGICAL RESEARCH

编　　辑　《动物学研究》编辑部
[650223　昆明市教场东路32号　中国科学院昆明动物研究所　电　话：(0871)65199026
传　真：(0871)65113532　zoores@mail.kiz.ac.cn]
主　　编　姚永刚
主 办 单 位　中国科学院昆明动物研究所 中国动物学会©
主 管 单 位　中国科学院
出 版 单 位　科学出版社(北京东黄城根北街16号　邮编100717)
印 刷 装 订　昆明小松制版印刷有限公司(昆明市北京路402号建设大厦15楼　邮编650031)
国内总发行　云南省邮政公司报刊发行局（昆明市吴井路139号　邮编650011）
订　购　处　全国各地邮政局
国外总发行　中国国际图书贸易总公司（中国国际书店）（北京399信箱　邮编100044）
广告经营许可证：滇工商广字66号

国内外公开发行　刊号：ISSN 0254-5853 / CN 53-1040/Q

国内邮发代号：64-20　国外发行代号：BM358
定价：¥40.00　Post No：BM358